PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

43. BAND, 1. HEFT

MIT 41 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 12. DEZEMBER 1953)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953

Planta (Berl.)

Preis DM 17.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler*. Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an

Professor Dr. Otto Renner, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W.1

43. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 1. Heft

Seite

Becker, T., Wuchsstoff- und Säureschwankungen bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelwechseln. Mit 12 Textabbildungen 1

Söding, H., und E. Raadts, Über das Verhalten des Wuchsstoffes der Koleoptilenspitze gegen Säure und Lauge 25

Eschrich, W., Beiträge zur Kenntnis der Wundsiebröhrenentwicklung bei *Impatiens Holsti*. Mit 27 Textabbildungen 37

Geitler, L., Abhängigkeit der Membranbildung von der Zellteilung bei Diatomeen und differentielle Teilungen im Zusammenhang mit der Bildung der Innenschalen. Mit 2 Textabbildungen 75

Planta, Bd. 43, S. 1—24 (1953).

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.

WUCHSSTOFF- UND SÄURESCHWANKUNGEN BEI *KALANCHOË BLOSSFELDIANA* IN VERSCHIEDENEN LICHT-DUNKELWECHSELN *.

Von

TRAUTE BECKER.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Mai 1953.)

Nachdem bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* das photoperiodische Verhalten (HARDER und Mitarbeiter 1940, 1943, 1948) und die Rhythmik der Blütenbewegungen (BÜNSOW 1953a) bekannt sind, muß sich das Interesse den physiologischen Ursachen dieser Erscheinungen zuwenden. Beide stehen in gewisser Beziehung zum Wuchsstoff: Für die Blütenbildung ist an zahlreichen Kurztagpflanzen nachgewiesen worden, daß sie durch Wuchsstoffe gehemmt wird (DOSTAL und HOSEK 1937, BONNER und THURLOW 1949, VAN SENDEN 1951 u. a.). Auch zwischen rhythmischer Bewegung und Wuchsstoffgehalt bestehen Zusammenhänge (YIN 1941, v. GUTTENBERG und KRÖPELIN 1948, LAIBACH und KRIBBEN 1949, 1950, BEZLER und BÜNNING 1950).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, festzustellen, ob bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* tagesperiodische Wuchsstoffschwankungen auftreten. Im Laufe der Untersuchungen ergab sich dabei die Notwendigkeit, auch den Säurestoffwechsel und die Schwankungen des Frischgewichtes der *Kalanchoë*-Blüten zu untersuchen.

I. Methodik.

Bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* sind rhythmische Bewegungen nur an den nicht zu einer Röhre verwachsenen Teilen der Blütenblätter bekannt (HARDER 1949). BÜNSOW (1953a) konnte zeigen, daß der Verlauf dieser Bewegungen eine Möglichkeit gibt, das photoperiodische Verhalten bei *Kalanchoë* zu erklären. Da auch Blütenblätter Wuchsstoff enthalten (WEINLAND 1941), wurden für die nachstehenden Untersuchungen des Wuchsstoff- und Säuregehaltes neben Laubblättern in der Hauptsache die nicht verwachsenen Teile der Blütenblätter verwandt. Um eine Kontrolle für das Verhalten der Blüten zu haben, wurde in allen Versuchen auch deren Bewegung gemessen. Dazu wurden an 2 gegenüberliegenden Blütenblättern 3 cm lange Drähte aus 0,06 mm starkem Kupferlackdraht befestigt. Der Abstand der beiden freien Enden dieser Drähte diente als Maß für die Öffnungsweite der Blüten (BÜNSOW 1953a).

1. Pflanzenmaterial und Vorbehandlung.

Für die Untersuchungen an Blütenblättern wurden Pflanzen verwandt, die im Alter von etwa 9 Monaten durch 3wöchige Behandlung mit 9stündigem Kurztag

* Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät in Göttingen.

zur Blütenbildung veranlaßt worden waren. Die Entwicklung der Blütenstände erfolgte im natürlichen Tag; sie dauerte im Sommer etwa 3 Monate, im Winter 4—4,5 Monate. Für die Bestimmungen an Laubblättern wurden vegetative Pflanzen im Alter von 6—12 Monaten verwandt.

Vier Tage vor Beginn der Messungen kamen die Pflanzen aus dem Gewächshaus in ein Dunkelzimmer und wurden dem zu untersuchenden Licht-Dunkelrhythmus ausgesetzt. Zur Beleuchtung der Pflanzen dienten Glühbirnen, die durch fließendes Wasser gekühlt wurden. Bei Versuchen mit blühenden Pflanzen wurden vier 100 Watt-Birnen verwandt; die Beleuchtungsintensität betrug in der Höhe der Blüten 3000—5000 Lux. Bei Versuchen mit vegetativen Pflanzen wurden vier 300 Watt-Birnen benutzt; die Beleuchtungsintensität in der Höhe der Vegetationspunkte war dann 8000—10000 Lux. Während eines Versuches schwankte die Temperatur nur wenig, im extremsten Fall um $\pm 1{,}5^{0}$ C. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug 60—70%. Die zur Durchführung der Versuche nötige kurzfristige Beleuchtung während der Dunkelzeit erfolgte mit einer durch schwarzes Papier verdunkelten Lampe. Sie wurde so verwandt, daß jede Pflanze nur im Augenblick der Messung mit einer Beleuchtungsintensität von etwa 20 Lux beleuchtet wurde.

Für die Untersuchungen an Blütenblättern wurden im allgemeinen von 8 Pflanzen in Abständen von 3 Std je 3 Blüten gleichen Alters (gerade völlig aufgeblühte Blüten, vgl. BÜNSOW 1953a) abgenommen, insgesamt also jeweils 24 Blüten. Da die Blütenstände im Winter meistens weniger Blüten haben, mußten in einigen Fällen mehr als 8 Pflanzen dafür genommen werden.

Die nicht verwachsenen Zipfel der Blütenblätter wurden an der Stelle, an der sie in die Kronblattröhre[1] übergehen, abgerissen und zur Analyse verwandt.

Bei Versuchen mit Laubblättern wurde das Blattpaar des 4. Knotens von oben benutzt. Es kamen jeweils 2 Blätter von 2 verschiedenen Pflanzen zur Extraktion.

2. Herstellung der Extrakte.

Als Extraktionsmittel diente Methanol p. a. Das Pflanzenmaterial wurde, nachdem sein Frischgewicht bestimmt worden war, im Mörser mit etwas Methanol übergossen und fein zerrieben. Am Rückflußkühler wurde es dann mit 30—50 cm^3 Methanol bei etwa 72^{0} C 2 Std lang extrahiert (v. WITSCH 1939). Anschließend wurde filtriert (Filterpapier der Firma Carl Schleicher und Schüll Nr. 595) und das Methanol im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde, bezogen auf das Frischgewicht[2], mit bidestilliertem Wasser aufgenommen (auf 10 mg Frischgewicht kam 1 cm^3 Wasser).

[1] Der Fruchtknoten und die mit der Kronblattröhre verwachsenen Staubgefäße wurden dabei entfernt. Da diese bei verschiedenen Objekten einen hohen Wuchsstoffgehalt aufweisen (THIMANN und WENT 1934, WEINLAND 1941, MUIR 1942, HATCHER 1945), hätten durch sie die Ergebnisse verfälscht werden können.

[2] Da das Frischgewicht der Blüten rhythmisch schwankt, wurde zunächst versucht, die Blüten vor der Extraktion bei 105^{0} C zu trocknen und dann auf das Trockengewicht zu beziehen. Doch stellte sich bald heraus, daß der durch die Frischgewichtsschwankungen bei der Aufnahme der Extrakte entstehende Fehler nur so klein ist, daß er in den für den Wuchsstofftest hergestellten Verdünnungen innerhalb der Nachweisgenauigkeit des angewandten Testes liegt. Auch wenn die Extraktionsrückstände alle mit der gleichen Wassermenge aufgenommen wurden, ergaben sich die gleichen Kurven. Das Trockengewicht kann bei sorgfältiger Auswahl gleichalter Blüten als konstant bezeichnet werden.

In Vorversuchen mit reinem Heteroauxin konnte gezeigt werden, daß seine Wirksamkeit als Wuchsstoff durch diese Extraktionsmethode nicht herabgesetzt wurde.

3. Wuchsstoffbestimmung.

Kalanchoë Bloßfeldiana enthält Gerbstoffe (H. METZNER, unveröffentlicht, EHRENBERG, unveröffentlicht), die in Wuchsstofftesten hemmend wirken und die Wuchsstoffwirkung verdecken (v. WITSCH 1939). Es ist sehr schwierig, den *Kalanchoë*-Gerbstoff aus den Extrakten zu beseitigen, ohne gleichzeitig den Wuchsstoff mit zu entfernen, da beide Stoffe in den gleichen Lösungsmitteln löslich und an den bisher bekannten Adsorptionsmitteln praktisch gleich gut adsorbierbar sind. Im Kressewurzeltest (MOEWUS 1948) ist nun ein physiologischer Test gegeben, der es möglich macht, Wuchsstoffe und Hemmstoffe nebeneinander zu testen, bzw. die Hemmstoffwirkung dadurch auszuschalten, daß Verdünnungsstufen getestet werden, in denen der Hemmstoff nicht mehr wirksam ist, der Wuchsstoff aber noch zur Wirkung kommt (SÖDING 1952). Für die Wuchsstoffuntersuchungen an *Kalanchoë* war der Kressewurzeltest daher besonders geeignet. Er wurde in der von MOEWUS (1948) angegebenen Weise[1] mit Kressesamen der Ernte 1949 durchgeführt, die von der Firma Karl Hild, Marbach a. Neckar, bezogen wurden.

Alle Extrakte, die im Laufe von 24 Std gewonnen wurden, kamen am folgenden Tag gleichzeitig in den Test. Bis dahin wurden sie im Dunkeln bei 0° C aufbewahrt. Getestet wurden die Extrakte in der Verdünnung 1:10, in der sich keine Gerbstoffwirkung mehr bemerkbar machte, außerdem gleichzeitig in Verdünnungen von 1:100 und 1:1000. Mit wenigen Ausnahmen wurde jede Verdünnungsstufe in einem Ansatz mehrfach getestet. Quantitative Wuchsstoffangaben wurden nicht gemacht, da nach CLAUSS (1952) der Kressewurzeltest für quantitative Wuchsstoffangaben nicht ausreicht. Außerdem kann bei der Anwendung des Kressewurzeltestes nicht entschieden werden, ob die Wuchsstoffwirkung der Extrakte auf einen einzelnen Stoff zurückzuführen ist. Bei der Auswertung der Versuche wurden nur solche Ergebnisse direkt miteinander verglichen, die an demselben Tage gewonnen worden waren.

4. Säurebestimmung.

Der Gesamtsäuregehalt der Blütenextrakte wurde durch Titration mit n/500 NaOH gegen Phenolphthalein bestimmt; für Extrakte aus Laubblättern wurde n/50 NaOH verwandt. Die Titration erfolgte mit einer automatischen Mikrobürette. Der Säuregehalt der Blüten wurde nicht auf das Frischgewicht, das rhythmisch schwankte, bezogen, sondern in Äquivalent je 24 Blüten angegeben.

5. Statistik.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse wurde nach PÄTAU (1943) durchgeführt.

II. Versuchsergebnisse.

A. Vorversuche.

Bevor mit den Wuchsstoffbestimmungen begonnen werden konnte, mußte zunächst eine Anzahl von Vorfragen gelöst werden.

[1] Die Kritik am Kressewurzeltest bezieht sich nicht auf die technische Ausführung, sondern auf seine Anwendung bei quantitativen Wuchsstoffbestimmungen.

1. Wuchsstoffgehalt in gleichzeitig geerntetem Pflanzenmaterial[1].

Da für Extrakte, die im Laufe von 24 Std für die Bestimmung des Wuchsstoffgehaltes gemacht werden sollten, immer wieder neues Pflanzenmaterial verwendet werden mußte, wurde zunächst geprüft, ob sich Extrakte aus Blütenblättern und Laubblättern, die gleichzeitig geerntet wurden, in ihrer Wuchsstoffwirkung auf das Wachstum der Kressewurzel unterscheiden. Nur wenn dies nicht der Fall ist, besteht die Möglichkeit, aus der Wuchsstoffwirkung verschiedener Extrakte eine Tageskurve des Wuchsstoffgehaltes aufzustellen. Tabelle 1 zeigt, daß Extrakte aus jungen Blütenblättern und gleichzeitig gewonnene Extrakte aus alten Blütenblättern nicht die gleiche Wirkung im Kressewurzeltest haben. (In den Verdünnungsstufen 1:10 und 1:100 ließen sich die Unterschiede statistisch sichern.) Dagegen unterscheiden sich Extrakte aus Blütenblättern gleichen Alters[2] (Tabelle 1) in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Kressewurzel praktisch nicht, wenn die Blütenblätter gleichzeitig geerntet wurden (die geringen Unterschiede waren statistisch nicht zu sichern). Auch Extrakte aus Laubblättern, die gleichzeitig von verschiedenen Pflanzen aber vom entsprechenden Knoten geerntet wurden, hatten keine unterschiedliche Wirkung im Kressewurzeltest.

Tabelle 1. *Wirkung von Extrakten aus Pflanzenmaterial, das gleichzeitig geerntet wurde, im Kressewurzeltest.* Hemmung bzw. Förderung angegeben in Prozent der Wasserkontrolle. Verdünnungsstufen der Extrakte 1:10, 1:100, 1:1000.

	1:10	1:100	1:1000
Junge Blüten a) . .	+2,2	+6,7	+6,1
b) . .	+1,7	+6,1	+6,1
Alte Blüten	−3,3	+2,7	+4,4
Blätter a)	+0,6	+1,1	+5,0
b)	+1,1	+1,7	+5,5

Es bestand also die Möglichkeit, den Wuchsstoffgehalt in Blütenblättern und Laubblättern im Laufe von 24 Std zu verfolgen, wenn gleichaltrige Blütenblätter bzw. Laubblätter desselben Knotens zur Extraktion verwendet wurden.

2. Schwankungen des Frischgewichtes.

Bei der Bestimmung des Frischgewichtes der Kronblattzipfel von *Kalanchoë*-Blüten vor der Extraktion zeigte sich, daß diurnale Gewichtsschwankungen auftraten.

a) Tagesperiodizität. In Abb. 1 sind die Veränderungen des Frischgewichtes (ausgezogene Kurve *G*) innerhalb von 24 Std in verschiedenen

[1] Die Wuchsstoffwirkung der Extrakte auf die Kressewurzel wird als ein relatives Maß für den Wuchsstoffgehalt angesehen.

[2] Das Alter läßt sich aus der Aufblühfolge der Blüten bestimmen.

Licht-Dunkelrhythmen wiedergegeben. Es handelt sich um Mittelwertskurven aus je 5 Einzelversuchen. Das Frischgewicht der Kronblattzipfel nahm im 12:12[1], 9:15 und 6:18 Std Licht-Dunkelrhythmus bis zur Mitte der Lichtzeit zu, um dann bis etwa zur Mitte der Dunkelzeit geringer zu werden. Im 18:6stündigen Licht-Dunkelwechsel wurde das Maximum des Frischgewichtes bereits 6 Std nach Lichtbeginn erreicht und das Minimum 9 Std später, also noch während der Lichtzeit. Die

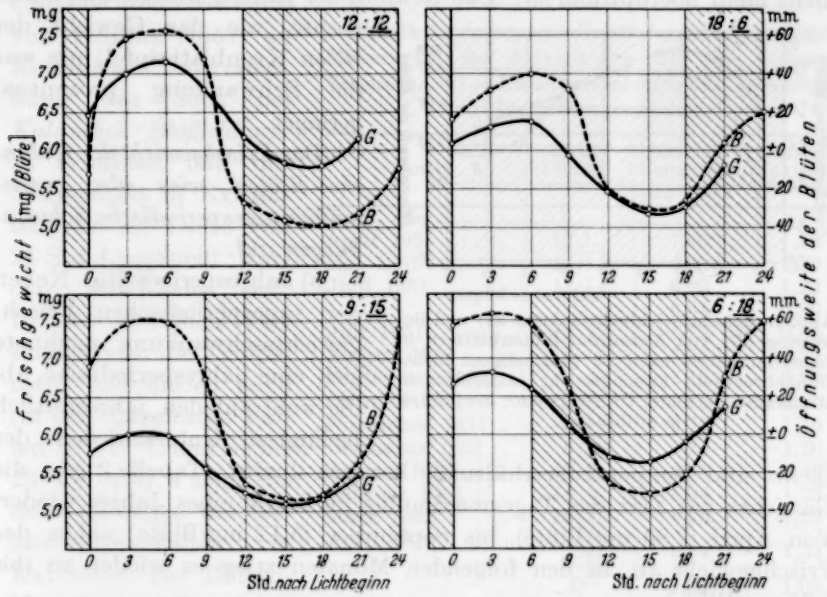


Abb. 1. Frischgewichtsschwankung (*G*) und Bewegung (*B*) von *Kalanchoë*-Blütenblättern in verschiedenen Licht-Dunkelrhythmen. Frischgewicht angegeben in Milligramm je Blüte, Öffnungsweite der Blüten in Millimeter.

Abb. 1 (gestrichelte Kurve *B*) zeigt außerdem die in denselben Versuchen gemessene Bewegung der *Kalanchoë*-Blüten. Es ergibt sich eine auffällige Übereinstimmung in dem Verlauf der Frischgewichtsschwankungen und der Bewegung. Während der Öffnungsbewegung (das entspricht dem aufsteigenden Ast der gestrichelten Kurve *B*) nahm das Frischgewicht zu, während der Schließbewegung wurde es geringer. Bünsow (unveröffentlicht) hat bei Untersuchungen über den Mechanismus der Blütenbewegung diese in der Hauptsache auf Turgorschwankungen zurückgeführt. Es ist anzunehmen, daß die Frischgewichtsschwankungen ein Ausdruck für die Turgoränderungen in den Kronblattzipfeln sind. In Dauerdunkelheit im Anschluß an 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel gingen die Kurven für die Abnahme des Frischgewichtes und

[1] Die unterstrichene Zahl gibt die Dunkelstunden an.

für die Schließbewegung dagegen nicht mehr parallel (Abb. 2); während das Frischgewicht das Maximum bereits überschritten hatte, blieben die Blüten noch weit geöffnet. Dies könnte darauf beruhen, daß bei Dauerdunkelheit die Wasseraufnahme größer war als bei Beleuchtung, so daß der Turgor in den Zellen des Bewegungsgewebes überoptimal wurde. Nimmt das Frischgewicht, d.h. der Wassergehalt, ab, so macht sich das, gemessen an der Bewegung, erst bemerkbar, wenn der Turgor nicht mehr überoptimal ist. Das Gewicht der ganzen Blüten schwankte ebenso wie das Gewicht der freien Kronblattzipfel, nur war die Schwankung prozentual geringer.

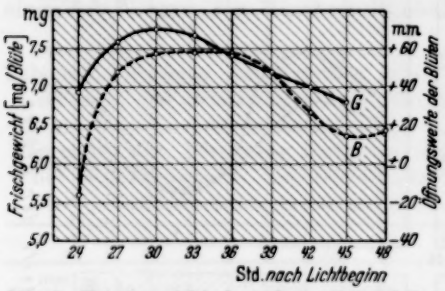


Abb. 2. Frischgewichtschwankung (*G*) und Bewegung (*B*) von *Kalanchoë*-Blütenblättern in Dauerdunkelheit nach 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel. Frischgewicht angegeben in Milligramm je Blüte, Öffnungsweite der Blüten in Millimeter.

Das Frischgewicht der Kalanchoë-Blüten wies also gesetzmäßige tagesperiodische Schwankungen auf.

b) Jahresperiodizität. Neben der tagesperiodischen Frischgewichtsschwankung zeichnete sich eine jahresperiodische ab, die wohl auf den jahreszeitlich bedingten Unterschieden der Licht- und Temperaturverhältnisse beruhen dürfte. Tabelle 2 gibt die Gewichte zur Zeit des Tagesmaximums im Laufe eines Jahres wieder. Von April (7,80 mg/Blüte) bis September (5,12 mg/Blüte) nahm das Frischgewicht ab, in den folgenden Monaten stieg es wieder an (bis 8,24 mg/Blüte).

Tabelle 2 zeigt ferner, daß im 18:6stündigen Licht-Dunkelwechsel die Maximalgewichte geringer waren, als der Jahreszeit nach zu erwarten war: Die Werte lagen zwischen 6,04 und 6,46 mg/Blüte, während vorher im 6:18stündigen Licht-Dunkelwechsel schon 7,24 mg/Blüte und hinterher bei 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel 8,24 mg/Blüte erreicht wurden. Dies entspricht der Kurvenverlagerung nach unten in BÜNSOWS (1953a und b) Bewegungskurven, wie sie bei langen Lichtzeiten auftritt. Bei Dauerdunkelversuchen war dagegen das Maximalgewicht relativ hoch, was eventuell dafür sprechen könnte, daß dann der Turgor des Bewegungsgewebes überoptimal ist. Auch in der Amplitude der Frischgewichtsschwankungen zeigte sich eine Jahresperiodizität (Tabelle 2): Im Sommer und Herbst war die Differenz zwischen Maximum und Minimum kleiner (kleinster Wert 0,73 im August 1951) als im Winter und Frühjahr (größter Wert 1,54 im April 1952).

Neben tagesperiodischen kamen also auch jahresperiodische Schwankungen des Frischgewichtes der Blütenblätter vor.

3. *Säureschwankungen.*

Die Bestimmung des Gesamtsäuregehaltes der Extrakte wurde ursprünglich durchgeführt, um festzustellen, ob die eventuell vorhandenen Säureunterschiede einen Einfluß auf das Wachstum der Kressewurzel haben. Nach den Versuchen von WOLF (1931, 1937, 1938, 1939a und b, 1949) an verschiedenen *Bryophyllum*-Arten und *Sempervivum glaucum*, von W. BONNER und J. BONNER (1948) an *Bryophyllum crenatum* und *Crassula arborescens* und von SOMERS (1951) an *Kalanchoë Daigremontiana* war auch bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* zu erwarten, daß der Säuregehalt in Extrakten, die im Laufe von 24 Std hergestellt wurden, verschieden sei[1]. In den einzelnen Versuchen war die Temperatur verschieden hoch (in den extremsten Fällen 16—17° C und 24 bis 25° C). Abb. 3 zeigt die Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes in Extrakten aus Blütenblättern in 6 Einzelversuchen, die im 9 : 15stündigen Licht-Dunkelwechsel bei verschiedenen Temperaturen gemacht wurden. Das Minimum des Gesamtsäuregehaltes lag im allgemeinen 6 Std nach Lichtbeginn. In 2 Versuchen, bei 17—18° C und bei 21,5—23° C, wurde es erst 9 Std nach Lichtbeginn erreicht. Die Temperatur hatte bei den vorliegenden Versuchen offenbar keinen Einfluß auf die Lage der Extremwerte, denn auch in den übrigen untersuchten Licht-Dunkelrhythmen zeigte die Lage der Säuremaxima und -minima keine Abhängigkeit von der Temperatur. Ob die Jahreszeit eine Wirkung auf die diurnalen Säureschwankungen hat, kann aus dem vorliegenden Versuchsmaterial nicht entschieden werden.

Tabelle 2. *Jahresperiodizität des Frischgewichtes.* Mittelwerte der Maximalgewichte aus mehreren Versuchen. D = Dauerdunkel nach 12 : 12stündigem Licht-Dunkelwechsel.

Monat	Licht-Dunkelwechsel	Maximalgewicht mg/Blüte	Differenz Maximum-Minimum
April 1951 . . .	12 : 12	7,80	1,50
Mai 1951	12 : 12	6,88	1,30
Juni 1951 . . .	12 : 12	6,69	1,23
	D	6,84	0,89
Juli 1951	12 : 12	5,75	0,84
August 1951 . .	9 : 15	5,32	0,73
September 1951 .	9 : 15	5,12	0,77
Oktober 1951 . .	9 : 15	5,49	0,76
November 1951 .	6 : 18	6,75	1,19
Dezember 1951 .	6 : 18	7,24	1,20
Januar 1952 . .	18 : 6	6,41	1,46
Februar 1952 . .	18 : 6	6,04	1,23
März 1952 . . .	18 : 6	6,46	1,22
April 1952 . . .	12 : 12 9 : 15	8,24	1,54
	D	8,32	1,08
Mai 1952	D	7,79	0,99

[1] Äpfelsäure konnte aus den Extrakten als Silbermalat ausgefällt werden. Der Nachweis von anderen Säuren ist durch die üblichen qualitativen Nachweisreaktionen nicht gelungen, aber es ist trotzdem sehr wahrscheinlich, daß Spuren der übrigen Säuren des KREBSschen Zyklus in den Extrakten waren.

Abb. 4 gibt die bei unterschiedlicher photoperiodischer Behandlung in Extrakten aus Blütenblättern auftretenden Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes wieder. Es handelt sich um Mittelwertskurven aus jeweils 5—7 Einzelversuchen. Minimum und Maximum folgten in den untersuchten Licht-Dunkelrhythmen im Mittel in Abständen von 12 Std aufeinander. Die Lage der Minima und Maxima war abhängig vom Beleuchtungswechsel. Bei kurzen Lichtzeiten wurden sie früher erreicht als bei langen (Tabelle 3). War die Lichtzeit länger als 9 Std, so begann die Zunahme des Gesamtsäuregehaltes bereits vor Dunkelheitsbeginn. [Gleiches hat VICKERY (1952) bereits an Blättern von *Bryophyllum calycinum* festgestellt.]

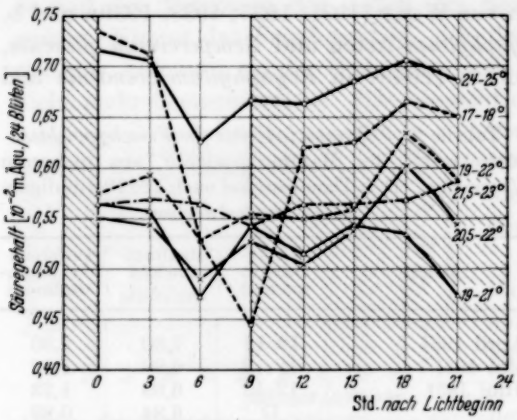


Abb. 3. Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes in Extrakten aus *Kalanchoë*-Blütenblättern, angegeben im Milli-Äquivalent/24 Blüten. Versuche im 9:15 Std Licht-Dunkelrhythmus bei verschiedenen Temperaturen.

Tabelle 3. *Lage der Maxima und Minima des Gesamtsäuregehaltes.*

Die in Klammern gesetzten Zahlen geben die gefundenen Abweichungen an.

Licht-Dunkelrhythmus	Std nach Lichtbeginn	
	Minimum	Maximum
12:12	9 (6, 12)	21 (18)
18:6	12 (9)	24 (21, 18)
9:15	6 (9)	18 (15, 21)
6:18	6 (12)	18 (21)
Dauerdunkel	42 (36)	—

Im 6:18stündigen Beleuchtungswechsel wurde die vollständige Absäuerung praktisch bereits am Ende der Lichtzeit erreicht. Doch nahm der Säuregehalt nun nicht sofort wieder zu, sondern blieb im Dunkeln noch etwa 6 Std gering, ehe er wieder anstieg. Bei Dunkelzeiten, die länger als 12 Std dauerten, setzte eine geringe Absäuerung bereits vor Lichtbeginn ein. Licht bedeutet also nicht unbedingt Absäuerung und Dunkelheit nicht unbedingt Ansäuerung, sondern es müssen auch innere Faktoren an der Steuerung der tagesperiodischen Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes beteiligt sein. In Dauerdunkelheit nach 12:12-stündigem Beleuchtungswechsel (diese Versuche wurden bei 17—18° C durchgeführt) war die Amplitude der Säureschwankung gedämpft, die Abnahme des Gesamtsäuregehaltes bis zum Minimum betrug nur 10% des Ausgangswertes (im Vergleich zu 30% nach 12stündiger Beleuchtung), und das Minimum wurde im

Mittel 42 Std nach Lichtbeginn erreicht, gegenüber dem bei 12stündiger Beleuchtung also verzögert. Dann erfolgte wieder ein geringer Anstieg.

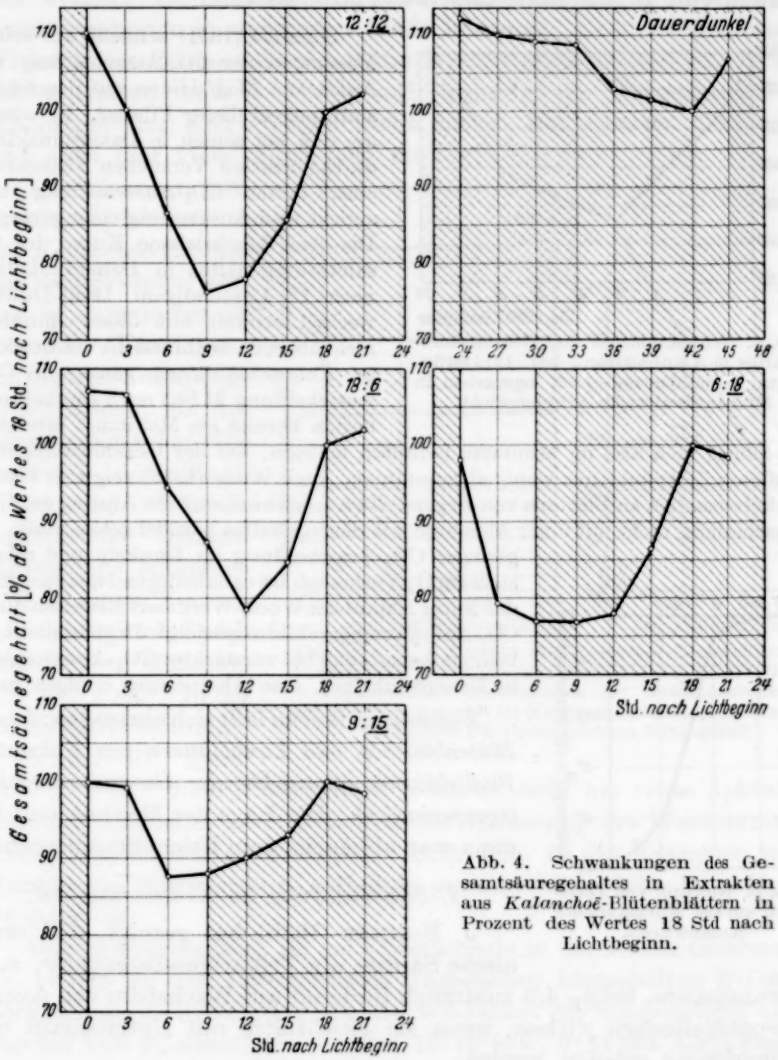


Abb. 4. Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes in Extrakten aus *Kalanchoë*-Blütenblättern in Prozent des Wertes 18 Std nach Lichtbeginn.

Die Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes in Laubblättern entsprachen im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel den Schwankungen des Säuregehaltes in den Blüten (Abb. 5). Der absolute Säuregehalt war in Laubblättern aber höher als in Blüten. Im Maximum hatten die Laubblätter einen Gesamtsäuregehalt von 600 Milli-Äquivalent/kg Frischgewicht gegenüber nur 65 Milli-Äquivalent/kg Frischgewicht bei

den Blütenblättern. Einen in derselben Größenordnung wie bei den *Kalanchoë*-Laubblättern liegenden Wert hat VICKERY (1952) in Laubblättern von *Bryophyllum calycinum* gefunden.

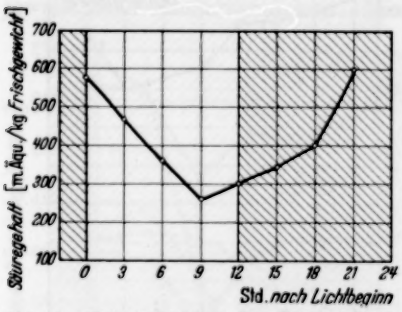


Abb. 5. Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes in Laubblättern bei 12:12stündigem Beleuchtungswechsel, angegeben in Milli-Äquivalent/kg Frischgewicht.

SCHMITZ (1951) schließt aus seinen Messungen der CO_2-Ausscheidung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* auf den Säurestoffwechsel dieser Pflanze. Er nimmt an, daß bei seinen in Dauerdunkelheit durchgeführten Versuchen Absäuerung einer hohen CO_2-Ausscheidung entspricht und Ansäuerung einer geringen. Die oben beschriebene Kurve des Gesamtsäuregehaltes in Dauerdunkelheit nach 12:12-stündigem Licht-Dunkelwechsel stimmt mit dieser Annahme nicht überein. Während die von SCHMITZ an *Kalanchoë*-Blüten gemessene CO_2-Ausscheidung 21 Std nach Dunkelheitsbeginn bereits ein Maximum erreichte, die Säuren sich also im Minimum befinden müßten, hat der Gesamtsäuregehalt zu diesem Zeitpunkt nur wenig abgenommen. Auch WOLF (1938) zeigte in Dauerdunkelversuchen an Blättern von *Bryophyllum calycinum*, daß ein Anstieg der CO_2-Ausscheidung nicht mit einer Abnahme des Säuregehaltes parallel gehen muß. Bei geringer CO_2-Ausscheidung im Dunkeln und relativ starkem O_2-Verbrauch ist es naheliegend anzunehmen, daß unter Ablauf der Wood-Werkman-Reaktion durch CO_2-Aufnahme Säurebildung erfolgt. Doch ist nicht unbedingt gesagt, daß bei verstärkter CO_2-Ausscheidung in Dauerdunkelheit eine Absäuerung erfolgen muß.

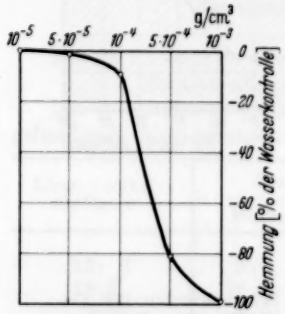


Abb. 6. Wirkung von Äpfelsäure auf das Wachstum der Kressewurzel.

Zusammenfassend läßt sich also sagen: *In den Blütenblättern und Laubblättern von Kalanchoë Bloßfeldiana schwankte der Gesamtsäuregehalt tagesperiodisch.* Die Lage der Maxima und Minima war abhängig vom Beleuchtungswechsel.

4. Säurewirkung im Kressewurzeltest.

J. BONNER (1949) hat gezeigt, daß organische Säuren des Trikarbonsäurezyklus, z. B. Zitronensäure, bei p_H 4,5 zusätzlich fördernd auf Wachstum von Avenakoleoptilzylindern wirken, wenn sie gleichzeitig mit Heteroauxin und Zuckerlösung geboten werden.

Nachdem festgestellt worden war, daß in den Extrakten aus *Kalanchoë*-Blütenblättern eine Gesamtsäuremenge von beispielsweise 65 Milli-Äquivalent/kg Frischgewicht vorkommen kann, wurde daher zunächst untersucht, welche Wirkung organische Säuren im Kressewurzeltest haben. Abb. 6 zeigt die Wirkung von Äpfelsäure auf das Wachstum

der Kressewurzel. In einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-5}$ g/cm³ war keine statistisch zu sichernde Hemmung des Wachstums mehr festzustellen. Bei weiterer Verdünnung trat keine Förderung ein, während höhere Konzentrationen in steigendem Maße hemmten. Clauss (1952) hat die Wirkung der Zitronensäure auf die Kressewurzel untersucht. In einer Konzentration von $8 \cdot 10^{-5}$ g/cm³ hemmte die Zitronensäure das Wachstum der Kressewurzel nicht mehr. Bei weiterer Verdünnung trat auch hier keine Förderung ein.

Da, wie oben mitgeteilt, Äpfelsäure in den *Kalanchoë*-Extrakten nachgewiesen worden ist, wurde für die folgende Überlegung die Gesamtsäuremenge vereinfachend als Äpfelsäure angesehen: Die während des Maximums im Extrakt auftretende Gesamtsäuremenge entsprach z. B. in einem Versuch $3{,}6 \cdot 10^{-5}$ g/cm³ Äpfelsäure, im Minimum $2{,}2 \cdot 10^{-5}$ g/cm³. In der Extraktverdünnung 1:10 ($2{,}2 \cdot 10^{-6}$ g/cm³ bzw. $3{,}6 \cdot 10^{-6}$ g/cm³) wäre also, wenn es sich um reine Äpfelsäurelösungen handelte, nach Abb. 6 keine Hemmung des Wachstums der Kressewurzel mehr zu erwarten. Auch wenn in den Extrakten in der Hauptsache Zitronensäure enthalten gewesen wäre, träte keine Hemmwirkung auf.

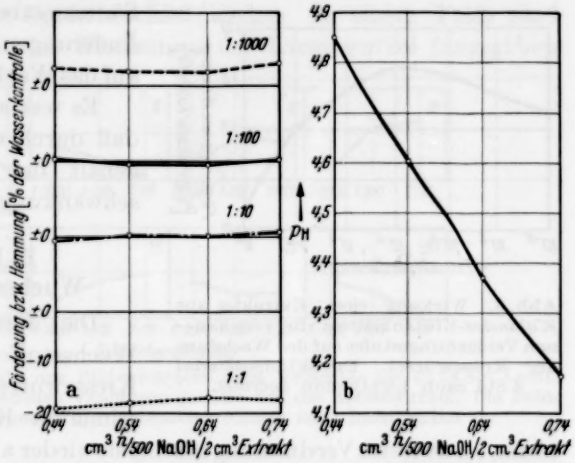


Abb. 7a u. b. a Extrakt aus *Kalanchoë*-Blütenblättern + Äpfelsäure in den Konzentrationen 1:1 bis 1:1000, die den vorkommenden Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes entsprachen, getestet im Kressewurzeltest. b pH-Wert des Extraktes bei verschiedenem Säuregehalt.

Um zu untersuchen, ob die Unterschiede in der Gesamtsäuremenge, die in den zu den verschiedenen Tageszeiten hergestellten Extrakten vorkommen, eine Wirkung auf das Wachstum der Kressewurzel haben, wurden von Pflanzen, die sich im 12:12 bzw. 9:15 Std Licht-Dunkelrhythmus befunden hatten, zu einem Zeitpunkt, an dem der Säuregehalt gering sein mußte, gleichalte Blüten abgenommen. Die Blütenblätter wurden extrahiert und nach Abdampfen des Alkohols der Rückstand mit bidestilliertem Wasser aufgenommen. Durch Titration wurde der Gesamtsäuregehalt bestimmt. Dann wurde einerseits die Wirkung des unveränderten Extraktes auf die Kressewurzel geprüft und außer-

dem dem Extrakt Äpfelsäure in solchen Mengen zugesetzt, daß Säureunterschiede auftraten, die den in diurnalen Licht-Dunkelwechseln vorkommenden entsprachen. Das Ergebnis zeigt Abb. 7a. Der Versuch wurde 3mal mit gleichem Ergebnis wiederholt. In keinem Fall traten bei verschiedenem Säuregehalt aber gleicher Verdünnungsstufe des Extraktes Wachstumsunterschiede der Kressewurzel auf, die statistisch zu sichern waren. An den gleichen Lösungen wurden p_H-Bestimmungen mit der Glaselektrode durchgeführt (Abb. 7b). Auch die durch die Säurezugabe hervorgerufenen p_H-Änderungen hatten keinen Einfluß auf das Wachstum der Kressewurzel.

Es war also nicht zu befürchten, daß durch den wechselnden Säuregehalt der Extrakte Wuchsstoffschwankungen vorgetäuscht wurden.

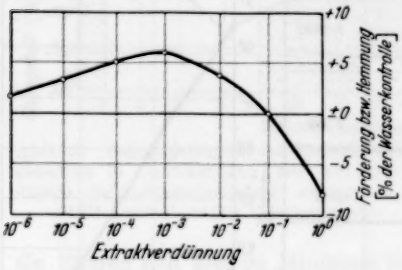


Abb. 8. Wirkung eines Extraktes aus *Kalanchoë*-Blütenblättern in verschiedenen Verdünnungsstufen auf das Wachstum der Kressewurzel. Extraktionsmaterial 3 Std nach Lichtbeginn geerntet.

B. Hauptversuche: Wuchsstoffschwankungen.

Die fördernde Wirkung eines Wuchsstoffes auf das Wachstum der Kressewurzel erreicht bei einer bestimmten Konzentration ihr Maximum, bei weiterer Verdünnung nimmt sie wieder ab (MOEWUS 1948). Abb. 8 zeigt die Wirkung der verschiedenen Verdünnungsstufen eines Extraktes aus *Kalanchoë*-Blütenblättern. Auch hier wurde in einer bestimmten Verdünnungsstufe (10^{-3}) das Wachstum der Kressewurzel maximal gefördert. Bei weiterer Verdünnung des Extraktes nahm die fördernde Wirkung wieder ab, um schließlich ganz aufzuhören. Der unverdünnte Extrakt aus Blütenblättern (Abb. 8: 10^0) oder Laubblättern wirkte immer hemmend auf das Wachstum der Kressewurzel. Da daran neben Wuchsstoff auch andere Stoffe (z.B. Gerbstoff und Säuren) beteiligt sein können, wurden die Extrakte in den rhythmischen Versuchen immer in den 3 Verdünnungsstufen 1:10, 1:100 und 1:1000 getestet. Dadurch lagen die Testergebnisse zum größten Teil im fördernden Bereich (vgl. Abb. 8). Ist nun in den einzelnen Versuchen der Wuchsstoffgehalt der Blütenblätter nicht gleich, so muß sich das natürlich in der Wirkung zeigen, die die Extrakte in den verschiedenen Verdünnungsstufen auf das Wachstum der Kressewurzel haben. Bei hohem Wuchsstoffgehalt wird wie in Abb. 8 die Extraktverdünnung 1:10 die geringste Förderung des Wachstums der Kressewurzel ergeben, die Extraktverdünnung 1:1000 die höchste. Ist der Wuchsstoffgehalt des Extraktes aber geringer, so wird das Wachstum der Kressewurzel in der Verdünnung 1:10 stärker gefördert werden als bei höherer Wuchsstoff-

konzentration, und das Maximum der Förderung wird etwa in der Extraktverdünnung 1:100 erreicht. Bei noch geringerem Wuchsstoffgehalt muß schließlich die Verdünnung 1:10 den höchsten Förderungswert ergeben und 1:1000 den geringsten. So besteht eine Möglichkeit, den Wuchsstoffgehalt der verschiedenen Extrakte miteinander zu vergleichen und die Lage des Maximums und Minimums zu bestimmen. Als Beispiel hierfür gibt Abb. 9 die Testergebnisse der in 3stündigen Abständen im Laufe von 24 Std hergestellten Extrakte eines Versuches im 6:18stündigen Licht-Dunkelwechsel wieder. In einem Felde sind jeweils die Förderungen des Wachstums der Kressewurzel (angegeben

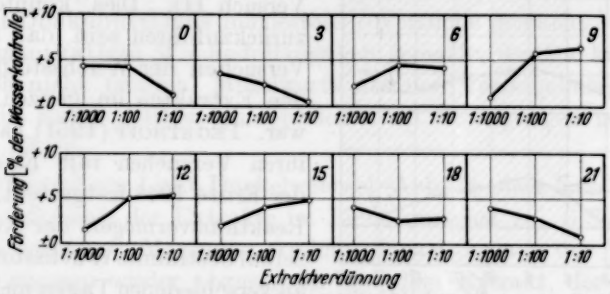


Abb. 9. Wirkung der Extrakte aus Blütenblättern eines Versuches im 6:18 Std Licht-Dunkelrhythmus in 3 verschiedenen Verdünnungsstufen auf die Kressewurzel. Die Feldnummern geben die Stunden der Extraktherstellung nach Lichtbeginn an.

in Prozent der Wasserkontrolle), die in den 3 Verdünnungsstufen des Extraktes erreicht wurden, zu einer Kurve miteinander verbunden. Bei Lichtbeginn und 3 Std danach (Kurven in den Feldern 0 und 3) entsprach der Kurvenverlauf dem rechten Teil der Abb. 8, der Extrakt muß also relativ viel Wuchsstoff enthalten haben. 6 Std nach Lichtbeginn wurde die stärkste Förderung des Wachstums der Kressewurzel in der Verdünnung 1:100 erreicht, der Wuchsstoffgehalt war in diesem Extrakt gegenüber den beiden früher hergestellten also geringer. 9 bis 15 Std nach Lichtbeginn blieb der Wuchsstoffgehalt in den Extrakten etwa gleich gering, d.h. die stärkste Förderung lag bei 1:10, dann stieg er wieder an. Das Maximum, d.h. der höchste Wuchsstoffgehalt, lag innerhalb der 24 Std, also zwischen 0 und 3 Std nach Lichtbeginn.

Die Abb. 10 zeigt eine zweite Möglichkeit, die Ergebnisse des Wuchsstofftestes darzustellen. Es handelt sich um denselben Versuch wie in Abb. 9, doch wurden in diesem Falle alle für die Extraktverdünnung 1:10 im Kressewurzeltest gewonnenen Werte zu einer Kurve miteinander verbunden, ebenso die Werte für die Verdünnungsstufen 1:100 und 1:1000. Es zeigt sich, daß die Kurven in den Extraktverdünnungen 1:10 und 1:1000 etwa spiegelbildlich zueinander verlaufen. Dies war auch zu erwarten. Wenn nämlich bei einem relativ hohen Wuchsstoff-

gehalt die Verdünnung 1:10 einen geringen Förderungswert im Kressewurzeltest ergibt und 1:1000 einen großen, so muß bei sinkendem Wuchsstoffgehalt der Förderungswert in der Verdünnungsstufe 1:10 zunehmen; in der Verdünnungsstufe 1:1000 muß er dagegen kleiner werden (Abb. 8 und 9).

In einigen Versuchen hatten die Extrakte in der Verdünnungsstufe 1:1000 keine Wirkung mehr im Kressewurzeltest, und die Kurve in der Verdünnungsstufe 1:100 verlief spiegelbildlich zu der Kurve in der Verdünnungsstufe 1:10 (Tabelle 4, Versuch II). Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß in diesen Versuchen der Wuchsstoffgehalt in den Extrakten im ganzen geringer war. TEGETHOFF (1951) hat aber in ihren Versuchen mit Kressesamen der Ernte 1948 festgestellt, daß das Reaktionsvermögen der Kressewurzel auf bestimmte Wuchsstoffmengen an verschiedenen Tagen nicht immer gleich ist. Dies zeigte sich in Versuchen mit reinen Heteroauxinlösungen auch für Kresse der Ernte 1949. Deshalb ist es wahrscheinlicher, daß die Unterschiede der Testergebnisse in Versuchen, die nicht am gleichen Tage durchgeführt wurden (Tabelle 4), auf unterschiedliches Reaktionsvermögen der Kresse zurückzuführen sind. Aber auch in Versuchen, in denen die Extrakt-

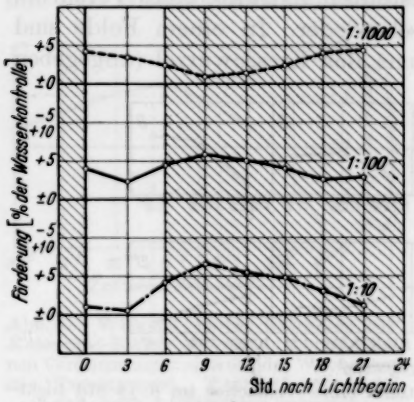


Abb. 10. Wirkung der Extrakte aus Blütenblättern eines Versuches im 6:18 Std Licht-Dunkelrhythmus in 3 verschiedenen Verdünnungsstufen (1:10—1:1000) auf die Kressewurzel. Abszisse: Zeit in Stunden nach Lichtbeginn, Ordinate: Förderung bzw. Hemmung des Wachstums der Kressewurzel in Prozent der Wasserkontrolle.

Tabelle 4. *Wirkung von Extrakten aus Blütenblättern, die im 9:15 Std Licht-Dunkelrhythmus zu verschiedenen Tageszeiten geerntet wurden, auf die Kressewurzel.* Förderung bzw. Hemmung angegeben in Prozent der Wasserkontrolle. Zeit in Stunden nach Lichtbeginn.

Std nach Lichtbeginn	Versuch I			Versuch II		
	1:10	1:100	1:1000	1:10	1:100	1:1000
0	+0,6	+7,5	+5,8	+0,6	±0	±0
3	±0	+2,3	+7,5	±0	+4,0	+0,6
6	+1,7	+2,3	+8,1	±0	+5,1	±0
9	+2,3	+5,2	+4,0	+0,6	+2,9	−1,1
12	+5,2	+5,2	±0	+3,4	+0,6	−0,6
15	+5,2	+2,9	+0,6	+2,3	+0,6	−1,1
18	+2,3	+2,3	+1,2	+3,4	−0,6	−0,6
21	+1,2	+3,2	+2,3	+1,1	+1,7	+0,6

verdünnungen 1:1000 keine Wirkung mehr im Kressewurzeltest hatten, war es möglich, aus der Änderung der Wuchsstoffwirkung im Laufe von 24 Std die Lage des Wuchsstoffmaximums und -minimums zu bestimmen.

1. Wuchsstoffschwankungen in Blütenblättern unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen.

Abb. 11 zeigt die Kressetestwirkung von Extrakten aus *Kalanchoë*-Blütenblättern, die in verschiedenen Beleuchtungsrhythmen im Laufe von 24 Std in 3stündigem Abstand gewonnen worden waren. Es ist jeweils nur das Ergebnis eines einzelnen Versuchs dargestellt, obwohl zu jedem Licht-Dunkelrhythmus mindestens 5 Versuche gemacht wurden. Da keine quantitativen Wuchsstoffangaben gemacht werden konnten, war es auch nicht möglich, Mittelwerte aus den Testergebnissen der Versuche, die unter gleichen photoperiodischen Bedingungen gemacht wurden, zu bilden.

Im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel (Abb. 11 oben links) nahm der Wuchsstoffgehalt der Extrakte im Licht zunächst zu. 6 Std nach Lichtbeginn wurde ein Maximum erreicht, danach begann der Wuchsstoffgehalt langsam wieder abzusinken. Bei dem Extrakt, der 15 Std nach Lichtbeginn hergestellt worden war, wurde in der Extraktverdünnung 1:10 der höchste Förderungswert erreicht, während in der Verdünnungsstufe 1:1000 das Wachstum der Kressewurzel nicht mehr beeinflußt wurde. Dies entsprach dem Wuchsstoffminimum. Danach begann der Wuchsstoffgehalt wieder anzusteigen.

In Tabelle 5 ist die Lage der Wuchsstoffmaxima und -minima in den einzelnen Versuchen wiedergegeben. Auch in den übrigen untersuchten Licht-Dunkelrhythmen (vgl. Abb. 11) entsprach im Mittel die Wirkung der Extrakte, die in der Mitte der Lichtzeit hergestellt wurden, dem höchsten Wuchsstoffgehalt, wenn die Lichtzeit nicht länger als 12 Std war. Bei 18stündiger Beleuchtung lag das Maximum der Wuchs-

Tabelle 5. *Lage des Wuchsstoffmaximums und -minimums in Extrakten aus Blütenblättern bei verschiedener photoperiodischer Vorbehandlung.*

Nr.	12:12		9:15		6:18		18:6		Dauerdunkel	
	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum
1	6	15	3—6	15	3	15	6	15	24 + 6	24 + 15
2	9	18	6	15	3	15	6	15	24 + 6	24 + 15
3	6	15	3—6	15	0—3	9—15	3—6	15	24 + 6	24 + 15
4	6	15	3—6	12—18	3—6	15—18	6	15	24 + (3—6)	24 + 9
5	3—6	15	3—6	12—18	3	12—15	6	18	24 + (3—6)	24 + (12—15)
6	—	—	3—6	15	—	—	—	—	—	—
7	—	—	6	12—15	—	—	—	—	—	—

stoffwirkung ebenso wie bei 12stündiger 6 Std nach Lichtbeginn. Entsprechend war die Lage des Maximums in den Bewegungskurven der

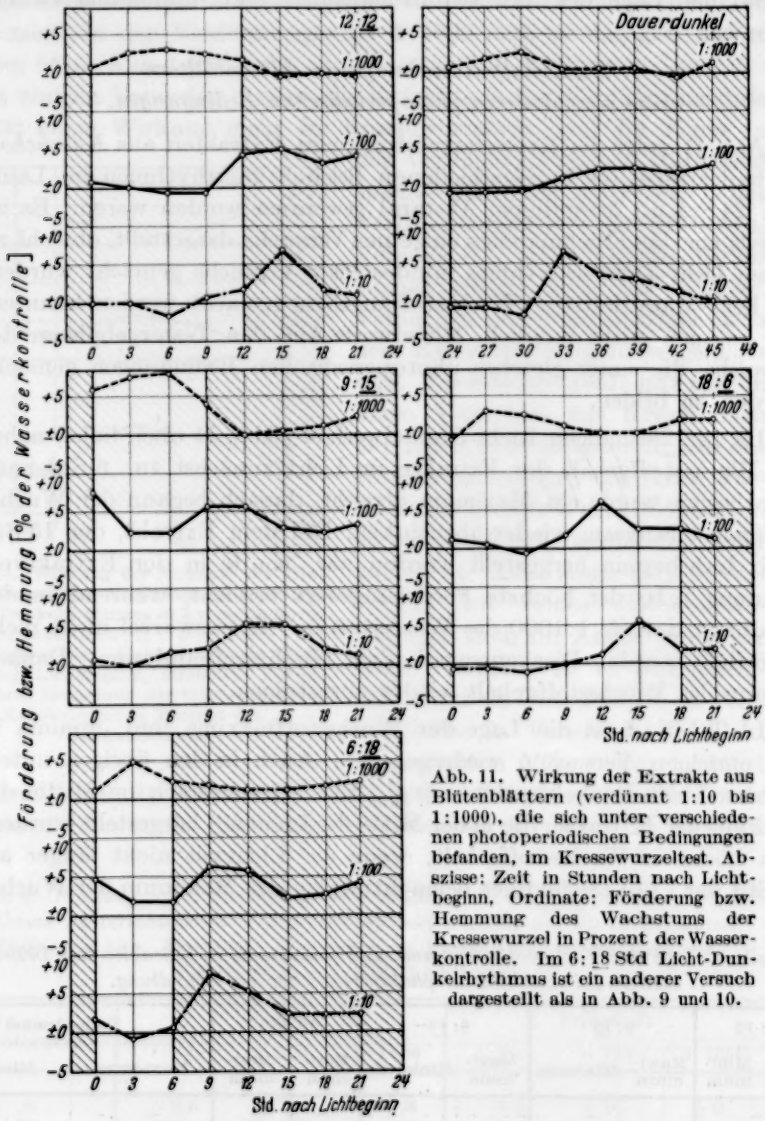


Abb. 11. Wirkung der Extrakte aus Blütenblättern (verdünnt 1:10 bis 1:1000), die sich unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen befanden, im Kressewurzeltest. Abszisse: Zeit in Stunden nach Lichtbeginn, Ordinate: Förderung bzw. Hemmung des Wachstums der Kressewurzel in Prozent der Wasserkontrolle. Im 6:18 Std Licht-Dunkelrhythmus ist ein anderer Versuch dargestellt als in Abb. 9 und 10.

Kalanchoë-Blüten (BÜNSOW 1953a). Die Lage des Minimums war in den einzelnen Licht-Dunkelrhythmen nur wenig verschieden und die Abweichungen waren so groß, daß nicht eindeutig entschieden werden kann, ob es nach kurzen Lichtzeiten etwas früher erreicht wurde als

nach langen. Im 18:6 Std Licht-Dunkelrhythmus wurde es mit einer Ausnahme bereits 15 Std nach Lichtbeginn, d.h. also noch im Licht erreicht.

Bei den Versuchen im Dauerdunkel nach 12:12stündigem Licht-Dunkelrhythmus begann die Messung 24 Std nach dem letzten Lichtbeginn. Auch bei Dauerdunkelheit entsprach die Wirkung der Extrakte, die 24 + 6 Std nach Lichtbeginn (vgl. bei 12stündiger Beleuchtung 6 Std nach Lichtbeginn) hergestellt worden waren, dem größten Wuchsstoffgehalt. Doch wurde die stärkste Förderung des Wachstums der Kressewurzel in der Extraktverdünnung 1:10 bereits 24 + 9 Std nach Lichtbeginn erreicht (in einem Fall 24 + 12 Std nach Lichtbeginn), während bei 12stündiger Beleuchtung die stärkste Förderung in dieser Verdünnungsstufe erst bei Extrakten eintrat, die 15 Std nach Lichtbeginn hergestellt worden waren (Abb. 11). Bei Dauerdunkelheit nahm die Wuchsstoffwirkung der Extrakte dann noch weiter ab, so daß das Minimum der Wuchsstoffwirkung im allgemeinen nicht eher erreicht wurde, als nach 12stündiger Beleuchtung (in einem Fall war es um 6 Std vorverlegt) (Tabelle 5). Hieraus könnte gefolgert werden, daß bei Dauerdunkelheit der Wuchsstoffgehalt im Minimum geringer war, als nach Beleuchtung.

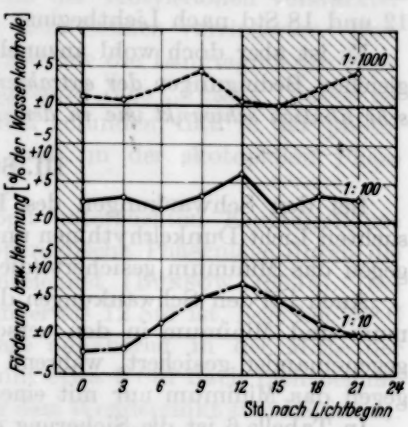


Abb. 12. Wirkung der Extrakte aus Laubblättern eines Versuches im 12:12 Std Licht-Dunkelrhythmus in 3 verschiedenen Verdünnungsstufen auf die Kressewurzel. Abszisse: Zeit in Stunden nach Lichtbeginn. Ordinate: Förderung bzw. Hemmung des Wachstums der Kressewurzel in Prozent der Wasserkontrolle.

In Blütenblättern von Kalanchoë Bloßfeldiana schwankte der extrahierbare Wuchsstoff also tagesperiodisch. Bei der angewendeten Methode kann allerdings nicht entschieden werden, ob es sich bei der unterschiedlichen Wirkung, die zu verschiedenen Tageszeiten gewonnene Extrakte auf die Kressewurzel haben, um Konzentrationsschwankungen eines einzelnen Stoffes handelte oder ob die Zusammensetzung verschiedener Stoffe schwankte. Trotzdem bleibt die Tatsache bestehen, *daß in allen untersuchten Licht-Dunkelrhythmen und auch bei Dauerdunkelheit Extrakte, die 3—6* bzw. bei Dauerdunkelheit *24 + 6 Std nach Lichtbeginn hergestellt wurden, eine größere Wuchsstoffwirkung hatten, als Extrakte, die 15 bzw. 24 + 15 Std nach Lichtbeginn hergestellt wurden.*

2. Wuchsstoffschwankungen in Laubblättern.

Versuche mit Laubblättern wurden durchgeführt, um festzustellen, ob auch in den Organen, die den photoperiodischen Reiz aufnehmen, tagesperiodische Wuchsstoffschwankungen auftreten. Die Ergebnisse (Abb. 12) waren nicht so eindeutig wie bei Versuchen mit Blütenblättern. Im 12:12stündigen Licht-Dunkelrhythmus lag das Maximum in 8 Einzelversuchen zwischen 3 und 9 Std, das Minimum zwischen 12 und 18 Std nach Lichtbeginn.

Es ist aber doch wohl anzunehmen, *daß in den Laubblättern* unter gleichen Bedingungen *der extrahierbare Wuchsstoff gleich oder zumindest sehr ähnlich schwankt wie in den Blütenblättern.*

III. Statistik.

Bei den Schwankungen des Frischgewichtes war in allen untersuchten Licht-Dunkelrhythmen und im Dauerdunkel das Maximum gut gegen das Minimum gesichert (die *P*-Werte waren kleiner als 0,0027).

Auch bei den Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes waren Maximum und Minimum in den verschiedenen Beleuchtungswechseln gut gegeneinander gesichert, während bei Dauerdunkelheit das Maximum gegen das Minimum nur mit einem *P*-Wert von 0,009 gesichert war.

In Tabelle 6 ist die Sicherung der Ergebnisse der Kressewurzelteste bei der Verdünnungsstufe 1:10 wiedergegeben. In 22 von 27 mit Blüten durchgeführten Versuchen waren in der Extraktverdünnung 1:10 das

Tabelle 6. *Statistische Sicherung der Unterschiede zwischen Maximum und Minimum der Wuchsstoffwirkung bei der Extraktverdünnung 1:10 im Kressewurzeltest (nach* PÄTAU *1943).*
P < 0,0027 gut gesichert, P > 0,01 nicht gesichert.

Versuch	Blüten					Blätter
	12:12 *P*	9:15 *P*	6:18 *P*	18:6 *P*	Dauerdunkel *P*	12:12 *P*
1	0,0002	0,0027	0,0002	0,0007	0,003	0,0002
2	0,0002	0,095	0,002	0,028	0,0002	0,06
3	0,008	0,0003	0,0007	0,0002	0,002	0,045
4	0,0027	0,05	0,0007	0,0003	0,0003	0,12
5	0,0005	0,14	0,0002	0,0027	0,1	0,008
6	—	0,002	—	—	—	0,0006
7	—	0,0003	—	—	—	0,0002
8	—	—	—	—	—	0,0006

Maximum gegen das Minimum gesichert. In der Extraktverdünnung 1:100 waren sie in 9 Versuchen gegeneinander gesichert und in der Extraktverdünnung 1:1000 in 5 Versuchen. Bei den 8 mit Laubblättern durchgeführten Versuchen konnte das Maximum nur in 5 Fällen in der Extraktverdünnung 1:10 gegen das Minimum gesichert werden.

IV. Besprechung.

Diurnale Schwankungen des Wuchsstoffgehaltes sind schon mehrfach beobachtet worden. So hat YIN (1941) die Blattbewegungen und die Wuchsstoffschwankungen an *Carica papaya*, v. GUTTENBERG und KRÖPELIN (1948) die von *Phaseolus coccineus* untersucht. LAIBACH und KRIBBEN (1950) haben bei dem photoperiodisch tagneutralen *Cucumis sativus* gefunden, daß mit dem Heben der Kotyledonen verstärkter Wuchsstoffabfluß verbunden ist, mit dem Senken verringerter. Dasselbe haben BEZLER und BÜNNING (1950) für die Langtagpflanze *Hyoscyamus* festgestellt; bei der Kurztagpflanze *Soja* „Peking" haben sie durch Untersuchungen im Dauerdunkel gefunden, daß in der photophilen Phase die Wuchsstoffabgabe groß, in der skotophilen Phase gering ist.

Bei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kurztagpflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana* ist die photoperiodische Phasenlage durch die Bewegung der Blütenblätter gekennzeichnet (BÜNSOW 1953a). Bei Rhythmen, deren Lichtphase nicht länger als 12 Std ist, liegt bei 20° C das Maximum der photophilen Phase annähernd in der Mitte der Lichtzeit. Die skotophile Phase beginnt etwa 9 Std nach Lichtbeginn, das entspricht bei der Blütenbewegung dem Wendepunkt zum Minimum. Die Wuchsstoffwirkung von Extrakten, die während der photophilen Phase hergestellt wurden, war im Mittel hoch, die von solchen aus der skotophilen Phase dagegen gering. Dies steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen BEZLERS und BÜNNINGS an der Kurztagpflanze *Soja* „Peking".

Da die Blütenbewegungen und die Wuchsstoffschwankungen bei *Kalanchoë* weitgehend synchron verlaufen, ist es naheliegend anzunehmen, daß die durch Turgorschwankungen bedingte Bewegung mit den Wuchsstoffänderungen in Zusammenhang steht. Eine Möglichkeit der Wuchsstoffwirkung auf den Turgor könnte darin gesehen werden, daß im Zusammenhang mit der Atmung Energie für eine aktive Wasseraufnahme bereitgestellt wird (BONNER und BANDURSKI 1952). Die verstärkte Wasseraufnahme, die sich in der Zunahme des Frischgewichtes zeigt und die bei der *Kalanchoë*-Blüte zur Öffnungsbewegung führt, könnte danach als eine Folge des Anstiegs der Wuchsstoffwirkung angesehen werden. Die Schließbewegung, die mit einer Abnahme des Frischgewichtes, d.h. mit einer Abnahme des Turgors parallel geht, könnte dadurch erklärt werden, daß mit dem Abnehmen der Wuchsstoffwirkung die Wasseraufnahme so gering wird, daß die Transpiration überwiegt. Bei konstanten Außenbedingungen kann, da die Spaltöffnungszahl der Blüten nur klein ist, die Transpiration wahrscheinlich als annähernd konstant angesehen werden, wenn nicht noch innere Faktoren einen Einfluß haben.

Eine andere Möglichkeit der Beeinflussung der Bewegung durch den Wuchsstoff kann in seiner Wirkung auf die Plasmapermeabilität gesehen werden. POHL (1949) und v. GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) haben eine Wirkung des Heteroauxins auf die Plasmapermeabilität festgestellt. Bei einer bestimmten Heteroauxinkonzentration erreicht die Plasmapermeabilität ein Optimum, um dann wieder abzunehmen.

v. GUTTENBERG und MEINL (1952) haben gezeigt, daß es sich dabei um eine spezifische Wirkung des Heteroauxins handelt, die vom p_H-Wert weitgehend unabhängig ist. In den Blütenblättern von *Kalanchoë* müßte dann zur Zeit der stärksten Wasseraufnahme der Wuchsstoff in einer Konzentration vorliegen, die optimal auf die Plasmapermeabilität wirkt und so den Wassereintritt erleichtert. Um die Abnahme des Wassergehaltes in den Blütenblättern zu erklären, genügt die Permeabilitätsänderung des Plasmas allein aber wohl nicht.

Auch bei Dauerdunkelheit läßt sich die Bewegung der Blüten nur durch Wuchsstoffwirkung nicht erklären. Während die Lage des Wuchsstoffmaximums und -minimums bei Dauerdunkelheit ebenso war wie bei 12stündiger Beleuchtung, wurde der Beginn der Schließbewegung um etwa 6 Std verzögert. Auffälligerweise war auch die Abnahme des Gesamtsäuregehaltes bei Dauerdunkelheit verzögert.

Ob in den Blütenblättern von *Kalanchoë Bloßfeldiana* diurnale p_H-Schwankungen auftreten, wurde bisher nicht untersucht, doch ist es bei einer Pflanze, in der der Gesamtsäuregehalt schwankt, wahrscheinlich, daß trotz Pufferung der p_H-Wert Schwankungen unterworfen ist. VICKERY (1952) hat an Blättern von *Bryophyllum calycinum*, die sich im rhythmischen Licht-Dunkelwechsel befanden, bereits gezeigt, daß der p_H-Wert sich entsprechend den Schwankungen des Säuregehaltes ändert. Es wäre daher möglich, daß auch p_H-Schwankungen durch ihre Wirkung auf den Quellungsgrad des Plasmas die Bewegungen der *Kalanchoë*-Blüten beeinflussen (BÜNNING 1939, 1941/42, v. GUTTENBERG und MEINL 1952).

Die Bewegung im Dauerdunkel könnte dann vielleicht durch ein Zusammenkommen von Wuchsstoff- und p_H-Wirkung erklärt werden. Durch einen geringen p_H-Wert (der Gesamtsäuregehalt nahm zunächst nicht ab) würde die Wasseraufnahme der Blüten bei Dauerdunkelheit größer als bei Beleuchtung, so daß der Turgor in den Zellen des Bewegungsgewebes überoptimal wäre. Mit dem Abnehmen des Wuchsstoffgehaltes ließe auch die Wasseraufnahme nach, was sich in der Abnahme des Frischgewichtes der Blüten bemerkbar macht. Erst wenn der Turgor nicht mehr überoptimal ist, kann auch die Schließbewegung beginnen. Da der p_H-Wert aber im Dauerdunkel weniger abnimmt als bei Beleuchtung (der Gesamtsäuregehalt nahm nur um 10% ab gegenüber 30% bei Beleuchtung), bleibt der Turgor der Zellen immer relativ hoch, und die Blüten vermögen sich nicht mehr richtig zu schließen.

Wahrscheinlich werden in jedem Fall für das Zustandekommen der Öffnungs- und Schließbewegungen mehrere Faktoren zusammenwirken müssen.

Seit DOSTAL und HOSEK (1937) zum erstenmal bei *Circaea* eine Unterdrückung der Blütenbildung durch Heteroauxin erzielt haben, wurde der Einfluß des Wuchsstoffes auf die Blütenbildung an zahlreichen Pflanzen untersucht und vor allem bei Kurztagpflanzen eine Hemmwirkung des Wuchsstoffes auf die Blütenbildung bestätigt. VAN SENDEN (1951) hat bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* durch Behandlung mit Heteroauxin eine Hemmung der Blütenbildung bekommen, während mehrtägige Dauerverdunklung der ganzen Pflanze vor der Induktion die Blütenbildung förderte. Daran anschließend hat BÜNNING (1952) die Möglichkeit diskutiert, die blühhemmende Wirkung des Lichtes in der skotophilen Phase bei Kurztagpflanzen darauf zurückzuführen, daß es die in diesem Zustand ablaufende Wuchsstoffinaktivierung verhindert.

Bei *Kalanchoë* zeigte sich aber, daß in Laub- und Blütenblättern der extrahierbare Wuchsstoff auch im Licht abnehmen kann (Abb. 11 und 12); bei 18stündiger Beleuchtung wurde das Minimum in Blütenblättern sogar noch während der Lichtzeit erreicht. Andererseits kann die Wuchsstoffwirkung im Dunkeln zunehmen, z.B. im Dauerdunkel (BEZLER und BÜNNING 1950). Ob nach mehrtägiger Dauerdunkelheit der Wuchsstoffgehalt im ganzen abgenommen hat, kann allerdings nicht entschieden werden.

Die vorliegenden Versuche sprechen daher nicht dafür, daß bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* die Wuchsstoffinaktivierung der lichtempfindliche Prozeß der skotophilen Phase ist. Dagegen sprechen auch die Versuche von HARDER und OPPERMANN (1952), die bei schwacher photoperiodischer Induktion keine Förderung der Blütenbildung durch den Wuchsstoffantagonisten Trijodbenzoesäure erreichen konnten. Nach BÜNNING (1952) wäre das eventuell noch so zu erklären, daß während der photophilen Phase Vorgänge ablaufen, die einen hohen Wuchsstoffgehalt erfordern, damit es zur Blütenbildung kommen kann. Sowohl durch Heteroauxin als auch durch Trijodbenzoesäure müßte dann das Gleichgewicht des Wuchsstoffhaushaltes bei *Kalanchoë* gestört werden. Wenn aber der Wuchsstoffgehalt bei Kurztagpflanzen in der photophilen Phase hoch sein muß, damit Blütenbildung erfolgen kann, dürfte in keinem Fall die Blütenbildung durch Trijodbenzoesäure gefördert werden, was aber bei *Soja* z.B. der Fall ist (GALSTON 1947).

Der hemmende Einfluß des Wuchsstoffes auf die Blütenbildung bei Kurztagpflanzen könnte vielleicht durch sein Eingreifen in den Energiehaushalt der Pflanze erklärt werden. Durch einen Wuchsstoffüberschuß

könnten hochenergetischen Phosphorverbindungen (z.B. Adenosintriphosphorsäure) für die vegetative Entwicklung Energie entzogen werden, die sonst für die Blütenbildung zur Verfügung stände. SÖDING (1952) sieht es für möglich an, daß bei der Blütenbildung ein bestimmter „Erregungszustand" des Plasmas eine Rolle spielen könnte. Die Herstellung bzw. Erhaltung dieses „Erregungszustandes" könnte z.B. ein energieverbrauchender Prozeß bei der Blütenbildung sein.

Zusammenfassung.

Bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* wurden aus Laub- und Blütenblättern, die sich unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen befanden, im Laufe von 24 Std in 3stündigen Abständen Extrakte hergestellt.

A. Die Wuchsstoffwirkung dieser Extrakte wurde im Kressewurzeltest geprüft:

Das Wuchsstoffmaximum lag 3—6 (bzw. bei Dauerdunkelheit 24 + 6) Std nach Lichtbeginn.

Bei Extrakten, die in der photophilen Phase hergestellt wurden, war die Wuchsstoffwirkung hoch, bei Extrakten aus der skotophilen Phase gering.

Lange Lichtzeiten, die für die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* ungünstig sind, hinderten die Abnahme der Wuchsstoffwirkung nicht.

Wuchsstoffinaktivierung kann bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* nicht der lichtempfindliche Prozeß der skotophilen Phase sein.

B. Das Frischgewicht der *Kalanchoë*-Blüten schwankte parallel zu der Öffnungs- und Schließbewegung der Blütenblätter. Außerdem zeigten die Schwankungen des Frischgewichtes eine Jahresperiodizität.

C. Der Gesamtsäuregehalt in Extrakten aus Laub- und Blütenblättern schwankte tagesperiodisch.

Nach langen Lichtzeiten nahm der Gesamtsäuregehalt bereits im Licht wieder zu, nach langen Dunkelzeiten schon im Dunkeln wieder ab.

Herrn Prof. Dr. HARDER möchte ich für die Überlassung des Themas und die stete Förderung der Arbeit danken.

Literatur.

BEZLER, H., u. E. BÜNNING: Tagesschwankungen der Wuchsstoffabgabe aus Blättern von Kurz- und Langtagpflanzen. Naturwiss. **37**, 92 (1950). — BONNER, J.: Limiting factors and growth inhibitors in the growth of the avena coleoptile. Amer. J. Bot. **36**, 323 (1949). — BONNER, J., and R. S. BANDURSKI: Studies of the physiology, pharmacology and biochemistry of the auxins. Annual Rev. Plant Physiol. **3**, 59 (1952). — BONNER, J., and J. THURLOW: Inhibition of photoperiodic induction in Xanthium by applied auxins. Bot. Gaz. **110**, 613 (1949). — BONNER, W., and J. BONNER: The role of carbon dioxide in acid formation by succulent

plants. Amer. J. Bot. **35**, 113 (1948). — Bünning, E.: Physiologie des Wachstums und der Bewegungen. Berlin 1939. — Untersuchungen über den physiologischen Mechanismus der endogenen Tagesrhythmik bei Pflanzen. Z. Bot. **37**, 433 (1941/42). — Wuchsstoff und Blütenbildung. Z. Bot. **40**, 81 (1952). — Bünsow, R.: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **1953**a. — Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* und ihre Beziehungen zur endogenen Tagesrhythmik. Z. Bot. **1953**b. — Clauss, H.: Kritische Untersuchungen über den Kressewurzeltest von Moewus. Z. Naturforsch. **7**b, 112 (1952). — Dostal, R., u. M. Hosek: Über den Einfluß von Heteroauxin auf die Morphogenese von *Circaea*. Flora (Jena) **131**, 263 (1937). — Ehrenberg, M.: Unveröffentlicht. — Galston, A. W.: The effect of 2,3,5-trijodbenzoic acid on the growth and flowering of Soybeans. Amer. J. Bot. **34**, 356 (1947). — Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 36 (1951). — Guttenberg, H. v., u. L. Kröpelin: Über den Einfluß des Heteroauxins auf das Laminargelenk von *Phaseolus coccineus*. Planta (Berl.) **35**, 257 (1948). — Guttenberg, H. v., u. G. Meinl: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Über den Einfluß des p_H-Wertes und der Temperatur auf die durch Heteroauxin bedingten Veränderungen der Wasserpermeabilität. Planta (Berl.) **40**, 431 (1952). — Harder, R.: Über die endogene Tagesrhythmik der Fermentaktivität, Guttation und Blütenbewegung bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* und *Phaseolus multiflorus*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. **1949**, Biol.-physiol.-chem. Abt. — Harder, R., u. O. Bode: Über die Wirkung von Zwischenbelichtung während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 469 (1943). — Harder, R., u. G. Gümmer: Über die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelrhythmen. Planta (Berl.) **37**, 12 (1948). — Harder, R., u. A. Oppermann: Einfluß von 2,3,5-Trijodbenzoesäure auf die Blütenbildung und die vegetative Gestaltung von *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **41**, 1 (1952). — Harder, R., u. H. v. Witsch: Wirkung von Photoperiodismus und Yarowisation auf die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Gartenbauwiss. **15**, 226 (1940). — Hatcher: Ann. of Bot., N. s. **9**, 235 (1945). Zit. nach Söding 1952. — Laibach, F., u. F. J. Kribben: Photoperiodische Krümmungsbewegungen an Gurkenhypokotylen. Z. Naturforsch. **4**b, 298 (1949). — Die Blütenbildung als photoperiodische Reaktion. Z. Naturforsch. **5**b, 160 (1950). — Metzner, H.: Unveröffentlicht. — Moewus, F.: Der Kressewurzeltest, ein neuer quantitativer Wuchsstofftest. Biol. Zbl. **68**, 118 (1948). — Muir: Amer. J. Bot. **29**, 716 (1942). Zit. nach Söding 1952. — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Pohl, R.: Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta (Berl.) **36**, 230 (1949). — Schmitz, J.: Über die Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen und Atmungsrhythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. Planta (Berl.) **39**, 271 (1951). — Senden, H. van: Untersuchungen über den Einfluß von Heteroauxin und anderen Faktoren auf die Blütenbildung bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Biol. Zbl. **70**, 537 (1951). — Söding, H.: Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — Somers, F. G.: The influence of light, temperature and some enzyme poisons upon the total organic acid content of leaf tissue of *Kalanchoë Daigremontiana*. Plant Physiol. **26**, 1 (1951). — Tegethoff, B.: Zur Frage der Wuchsstoffinaktivierung im Maisskutellum. Planta (Berl.) **38**, 648 (1951). — Vickery, H. B.: The behavior of isocitric acid in excised leaves of

Bryophyllum calycinum during culture in alternating light and darkness. Plant Physiol. **27**, 9 (1952). — Weinland, H.: Das Wachstum der Hypanthien bei Oenotheren. Z. Bot. **36**, 401 (1941). — Witsch, H. v.: Untersuchungen über die Umbestimmbarkeit plagiotrop und positiv geotrop reagierender Organe durch zusätzlichen Wuchsstoff. Jb. Bot. **87**, 1 (1939). — Wolf, J.: Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. Planta (Berl.) **15**, 572 (1931). — Beiträge zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. II. Untersuchungen über Beziehungen zwischen Sedoheptose und Äpfelsäure. Planta (Berl.) **26**, 516 (1937). — Beiträge zur Kenntnis sukkulenter Crassulaceen. III. Stoffliche Zusammenhänge zwischen gärfähigen Kohlehydraten und organischen Säuren. Planta (Berl.) **28**, 60 (1938). — Beiträge zur Kenntnis sukkulenter Crassulaceen. IV. Beobachtungen über Gehaltsschwankungen von Gesamt-, Äpfel- und Zitronensäure. Planta (Berl.) **29**, 314 (1939a). — Beiträge zur Kenntnis sukkulenter Crassulaceen. V. Mikrorespiratorische Untersuchungen an Blattgewebe von *Bryophyllum calycinum*. Planta (Berl.) **29**, 450 (1939b). — Beiträge zur Kenntnis sukkulenter Crassulaceen. VI. Neuere Vorstellungen über den Chemismus des Säurestoffwechsels. Planta (Berl.) **37**, 510 (1949). — Yin, H. C.: Studies on the nyctinastic movement of *Carica papaya*. Amer. J. Bot. **28**, 250 (1941).

Dr. Traute Becker, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Göttingen.

Planta, Bd. 43, S. 25—36 (1953).

Aus dem Staatsinstitut für allgemeine Botanik in Hamburg.

ÜBER DAS VERHALTEN DES WUCHSSTOFFES DER KOLEOPTILENSPITZE GEGEN SÄURE UND LAUGE*.

Von

HANS SÖDING und EDITH RAADTS.

(Eingegangen am 20. Mai 1953.)

Einleitung.

Die Frage nach der chemischen Natur des natürlichen Pflanzenwuchsstoffes ist bekanntlich noch nicht eindeutig in der Literatur beantwortet, nicht einmal für das Standardtestorgan, die Haferkoleoptile. In seinen grundlegenden Untersuchungen über die Chemie der Wuchsstoffe erhielt KÖGL 3 Stoffe von hoher Wuchsstoffwirksamkeit, das Auxin *a*, Auxin *b* und Heteroauxin. KÖGL suchte nach Anhaltspunkten, ob einer dieser Stoffe mit dem natürlichen Wuchsstoff der Koleoptilenspitze identisch sein könne, da aus den Pflanzen selbst nicht genug Wuchsstoff zu gewinnen ist, um ein natürliches Präparat unmittelbar mit der chemisch reinen, dargestellten Substanz zu vergleichen. Die Bestimmung des Molekulargewichtes des Hafer- und Maisspitzenwuchsstoffes nach der Diffusionsmethode durch WENT (1927), KÖGL, HAAGEN-SMIT und ERXLEBEN (1934) und HEYN (1935) ergab Werte zwischen 335 und 376 [vgl. dazu auch die Berechnungen von LARSEN (1944, S. 106)], die eindeutig auf eines der beiden Auxine *a* oder *b* (Mol.-Gew. 328 bzw. 310), vor allem auf Auxin *a*, hinwiesen, Heteroauxin (Mol.-Gew. 175) dagegen auszuschließen schienen. Weiter erwies sich der von Maisspitzen in Wasser abgegebene Wuchsstoff als säurefest, aber laugenempfindlich, beides in Übereinstimmung mit Auxin *a*, während sich Heteroauxin gerade umgekehrt verhält und Auxin *b* gegen Säure *und* Lauge empfindlich ist (KÖGL, HAAGEN-SMIT und ERXLEBEN 1934). Auf diese Ergebnisse gründete sich der lange unbezweifelt gebliebene Schluß, daß Auxin *a* der natürliche Wuchsstoff mindestens der Koleoptilen sei.

Dieser Ansicht ist vor allem J. BONNER und seine Schule entgegen getreten. WILDMAN und BONNER (1948) fanden in der Koleoptilenspitze des Hafers ein Enzymsystem, das aus Tryptophan einen Wuchsstoff, jedenfalls Heteroauxin, frei macht. Für den aus den Spitzen diffundierenden Wuchsstoff erhielten sie ein Molekulargewicht von 306; nach Reinigung durch Ausschütteln mit Äther ergab sich dagegen ein solches von nur 206. Nicht nur der mit Äther extrahierbare, sondern auch der

* OTTO RENNER zum 70. Geburtstag gewidmet.

durch Diffusion aus den Spitzen abgefangene Wuchsstoff gab die für Heteroauxin und seine Derivate charakteristische Salkowski-Reaktion (Rotfärbung mit Eisenchlorid-Schwefelsäure). BONNER schließt daraus, daß jedenfalls die Hauptmasse des natürlichen Haferwuchsstoffes aus Heteroauxin bestehe. KÖGLs Methoden seien unzuverlässig gewesen. Die Molekulargewichtsbestimmung an ungereinigten Präparaten werde durch Beistoffe gestört, und die Säure-Laugestabilität des Heteroauxins in rohen Extrakten hinge ab von der Gegenwart sowohl anderer oxydierbarer Stoffe als auch der von „Antioxydantien" (vgl. BONNER 1950, S. 446 und BONNER und BANDURSKI 1952. — Der Ansicht BONNERs hat sich auch REINERT (1950) angeschlossen. Der mit Äther aus den Spitzen von Haferkoleoptilen extrahierte Wuchsstoff erwies sich im Gegensatz zu den Versuchen KÖGLs als säureempfindlich, aber laugenbeständig. Durch „Erbsenenzym" wurde er inaktiviert, wie das auch beim Heteroauxin der Fall ist, und seine Wirkungskurve war identisch mit der des Heteroauxins.

Es kann nicht bezweifelt werden, daß WILDMAN und BONNER und REINERT der Nachweis des Heteroauxins oder zumindest eines ihm nahestehenden Stoffes in der Koleoptile gelungen ist. Es erscheint aber als noch unentschieden, ob das Heteroauxin der *einzige* Wuchsstoff der Koleoptile ist. Bekanntlich sieht v. GUTTENBERG und seine Schule (vgl. z. B. v. GUTTENBERG und EIFLER, 1952) im Heteroauxin den Aktivator des „eigentlichen" Wuchsstoffes, der — allerdings nach Versuchen an Dikotylen — beständig gegen Säure und Erbsenenzym ist, also nicht Heteroauxin sein kann. Auch ist es wohl noch nicht ganz sicher, ob man durch Abfangen in Agar und bei der Extraktion wirklich denselben Wuchsstoff erhält. Daß aber, wie BONNER annimmt, störende Beistoffe bei der Molekulargewichtsbestimmung einen Wert von 306 anstatt des wahren Wertes von 175 vortäuschen könnten, erscheint als sehr unwahrscheinlich; viel näher liegt die Annahme, daß bei der Reinigung durch Ausschütteln chemische Veränderungen mit dem Wuchsstoff vor sich gehen. Auch stimmt der nach der Reinigung erhaltene Wert von 206 ja keineswegs mit dem Molekulargewicht des Heteroauxins überein. Die für die Berechnung in der Arbeit mitgeteilten „X-Werte" zeigen untereinander eine so große Übereinstimmung, daß der Wert des Heteroauxins — 175 — vermutlich außerhalb der Fehlergrenze liegt. — Schließlich ist sehr auffallend, daß hinsichtlich der Säure-Lauge-Stabilität des Gräserwuchsstoffes REINERT und KÖGL, wenn auch der eine für Extraktions- und der andere für Abfangwuchsstoff, gerade zu dem entgegengesetzten Ergebnis kamen. Obwohl die Methode nicht hundertprozentig zuverlässig ist, da Heteroauxin unter Umständen die Säurebehandlung überstehen kann, müßte es doch schon ein sehr merkwürdiger Zufall gewesen sein, wenn Beistoffe KÖGLs Ergebnis derart verfälscht hätten.

Aus diesen und anderen Gründen wurde in der früher gegebenen Darstellung (SÖDING 1952) zwar wohl der Nachweis des Heteroauxins in der Koleoptilenspitze übernommen, im übrigen aber in Übereinstimmung mit KÖGL im Auxin *a* der „eigentliche" Wuchsstoff der Koleoptilen gesehen. Der Widerspruch zwischen den Ergebnissen der genannten Autoren ließ aber eine Nachprüfung ihrer Befunde als wünschenswert erscheinen, wobei zunächst Molekulargewicht und Säure-Lauge-Stabilität des auffangbaren Wuchsstoffes behandelt wurden. Die Untersuchungen über das Molekulargewicht sind bereits in anderem Zusammenhang veröffentlicht worden (RAADTS 1952). In 2 Versuchen wurden — in erneuter Übereinstimmung mit den älteren Ergebnissen — Werte von 336 und 344 gefunden. Die Untersuchungen über die Säure-Lauge-Stabilität des Wuchsstoffes machen es uns, wie vorgreifend bemerkt werden möge, unmöglich, die früher vertretene ältere Auffassung länger aufrechtzuerhalten. Andererseits können wir uns aber auch nicht ganz BONNER anschließen und im freien Heteroauxin den natürlichen Wuchsstoff der Koleoptile sehen.

Methodik.

Wir gingen zunächst in möglichster Annäherung an die Methode von KÖGL und Mitarbeitern vor. Einige 100 abgeschnittene Koleoptilenspitzen von Haferkeimlingen (Siegeshafer der Gebrüder Dippe Saatzucht, Herford) wurden für 1—2 Std in doppelt destilliertes Wasser gebracht. Das wuchsstoffhaltige Wasser wurde dann abgegossen und im Porzellanschälchen auf dem Wasserbad bis zur Trockne abgedampft. Der Rückstand wurde mit 1,2—1,5 cm^3 n HCl oder n NaOH aufgenommen und 3 Std am Rückflußkühler gekocht. Darauf wurde die Lösung auf einen p_H von etwa 3 gebracht und mit ungefähr der doppelten Menge Äther oder Chloroform 3mal je etwa 5 min ausgeschüttelt. Der Äther war am selben oder am Vortage unter Zusatz von $FeSO_4$, CaO und Wasser frisch überdestilliert. Bei der Kontrolle wurde die wäßrige Wuchsstofflösung unmittelbar oder nach vorhergehendem Abdampfen und Wiederaufnehmen mit Wasser ausgeschüttelt. Der Äther oder das Chloroform wurde abgedampft und der Rückstand mit einigen Tropfen desselben Lösungsmittels erneut aufgenommen und auf meist 5 Agarwürfel gegeben. Diese blieben eine Nacht über in einem Exsikkatorgefäß über Wasser und wurden dann im Hafertest am Tageslicht (SÖDING 1952) auf ihren Wuchsstoffgehalt geprüft.

Diese Methodik wurde mitunter abgewandelt. Die Dauer des Aufenthaltes der Koleoptilspitzen im Wasser wurde variiert. Vielfach wurde der Wuchsstoff auch zur Reinigung aus der wäßrigen Lösung nach Ansäuern auf p_H 3 mit Äther (oder Chloroform) ausgeschüttelt und der Äther zu der HCl oder NaOH gegeben. Nach Verdunsten des Äthers wurde dann gekocht. Statt n NaOH kam mitunter auch 0,5n KOH zur Anwendung. Zum Ansäuern vor dem Ausschütteln diente teils verdünnte HCl, etwa 0,1n, teils 3% Weinsäure. Bei der Neutralisation der Säure wurde stets $^1/_5$—$^1/_3$n NaOH benutzt.

In einigen Versuchen schließlich wurde der Wuchsstoff nur in Porzellanschälchen auf dem Wasserbad abgedampft, der Rückstand mit wenig Wasser — unter Zugabe einiger Tropfen Alkohol zur besseren Benetzung — aufgenommen und so auf Agarwürfel gegeben. Zum Abdampfen diente Wasser, etwa 4% HCl und verdünnte NH_4OH (etwa 2,5% NH_3). p_H-Bestimmungen mit Indikatorpapier an den

Agarwürfeln, die wie stets vorher mit Leitungswasser gewässert worden waren, zeigten keine wesentlichen Veränderungen durch die Säure oder Lauge an. — Hierzu sei noch bemerkt, daß wir nach dem Abdampfen von Heteroauxin den Rückstand nicht mit Alkohol, wohl dagegen mit Wasser (+ wenig Alkohol) aufnehmen konnten. Vermutlich war das Heteroauxin beim Abdampfen in die leicht wasserlösliche Salzform übergegangen.

Ergebnisse.

1. Das Verhalten des in Wasser auffangbaren Spitzenwuchsstoffes gegen heiße Salzsäure.

Die Tabelle 1 zeigt die Empfindlichkeit des Haferspitzenwuchsstoffes gegen kochende Salzsäure.

Tabelle 1. *Wirksamkeit von Haferspitzenwuchsstoff nach Kochen mit Salzsäure.*

Versuch vom	Anzahl der Haferspitzen je Agarwürfel	Abfangdauer Std	Ausgeschüttelt mit	Wuchsstoff vorher gereinigt	Krümmungen im Hafertest: für Spitzenwuchsstoff °	Krümmungen im Hafertest: für Spitzenwuchsstoff + HCl °
16. 7. 52	40	2	Äther	nein	7,0	0,1
19. 7. 52	40	2	Äther	nein	6,2	0,2
23. 7. 52	48	1	Äther	nein	7,8	0,0
25. 7. 52	60	1	Äther	nein	12,6	0,0
31. 1. 53	50	$1^1/_2$	Äther	ja	43,4	0,0
21. 3. 53	Kontr.: 100 + HCl: 200	$1^1/_2$	Chloroform	ja	19,3	0,8
25. 3. 53	Kontr.: 100 + HCl: 200	$1^1/_2$	Chloroform	nein	23,5	0,0
17. 4. 53	100	$1^1/_2$	Chloroform	nein	11,6	0,0
4. 7. 52	32	22	Äther	nein	19,6	0,0
9. 7. 52	28	18*	Äther	nein	13,2	0,2

* Spitzen, die bereits einmal extrahiert waren, waren erneut in Wasser gelegt worden.

Niemals hat der Wuchsstoff die Salzsäurebehandlung überstanden, einerlei, wie im einzelnen die Versuchsmethodik war. Es muß allerdings hervorgehoben werden, daß nur die Versuche mit Chloroform unbedingt beweisend sind, da aus noch zu schildernden Versuchen hervorgeht, daß man vielfach kleine Wuchsstoffmengen, wie man sie aus einigen hundert Spitzen auffängt, mit Äther nicht mehr, wohl aber noch mit Chloroform ausschütteln kann. Trotzdem bleibt bemerkenswert, daß auch nicht *einer* der 7 Ätherversuche nur eine Spur von Wuchsstoff gab.

2. Das Verhalten des Diffusionswuchsstoffes gegen heiße Natronlauge.

Versuche, in denen Äther zum Ausschütteln des Wuchsstoffes verwandt worden war, brachten zunächst schwankende Ergebnisse. Von 8 Versuchen mit ungereinigtem Spitzenwuchsstoff (Auffangdauer 1 bis $1^3/_4$ Std) war in 5 Fällen nach dem Kochen mit Lauge kein Wuchsstoff

mehr festzustellen; in 3 Fällen wurden dagegen im Hafertest Krümmungen von 1,8°, 9,8° und 18,2° beobachtet gegenüber von 12,6°, 14,4° und 20,6° bei den Kontrollen. In 5 weiteren Versuchen wurde aus Spitzen, aus denen bereits einmal Wuchsstoff abgefangen worden war, nochmals abgefangen (Dauer 18—20 Std). Hier traten in 3 Fällen nur Krümmungen unterhalb von 1° ein, 2mal dagegen Krümmungen von 17,4° und 32,2° gegenüber beide Male 18,6° der Kontrolle. In 10 weiteren Versuchen mit durch vorhergehendes Ausschütteln „gereinigten" Präparaten teils mit der langen, teils mit der kurzen Abfangszeit ergaben sich nur 3mal deutliche Krümmungen von 3,4°, 6,6° und 18,5° gegenüber jedesmal 15—20° der Kontrollen.

Auf der Suche nach der Ursache für dieses schwankende Verhalten ersetzten wir zunächst noch in einigen der oben geschilderten Versuche die n NaOH durch $^1/_2$n KOH, die auch von KÖGL und Mitarbeitern benutzt worden war, ohne daß sich aber dadurch irgend etwas an den Ergebnissen änderte. Mit beiden Reagentien verlief die Mehrzahl der Versuche negativ, einzelne waren aber positiv mit zum Teil nicht unerheblichen Wuchsstoffwerten. Eindeutige Ergebnisse erhielten wir aber, als wir den zuerst benutzten Äther durch Chloroform ersetzten. Nun ergaben *sämtliche* Versuche die Anwesenheit von Wuchsstoff nach der Laugenbehandlung (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Wirksamkeit von Haferspitzenwuchsstoff nach Kochen mit Lauge.*

Versuch vom	Anzahl der Haferspitzen je Agarwürfel	Lauge	Krümmungen im Hafertest für Spitzenwuchsstoff °	Krümmungen im Hafertest für Spitzenwuchsstoff + Lauge °	Bemerkungen
1. 4. 53	50	nNaOH	9,8	8,0	ungereinigt
9. 4. 53	50	nNaOH	14,6	11,6	ungereinigt
14. 3. 53	100	nNaOH	(21,8)	6,0	gereinigt
19. 3. 53	100	nNaOH	(23,8)	2,2	gereinigt
15. 4. 53	100	nNaOH	2,8	2,0	gereinigt, Kontr. 2mal ausgeschüttelt
11. 3. 53	50	$^1/_2$ nKOH	(26,6)	4,8	ungereinigt, Kontr. nicht ausgeschüttelt

Abfangsdauer stets $1^1/_2$ Std. Ausschüttlung mit Chloroform.

In den beiden ersten Versuchen mit ungereinigten Präparaten, in denen Behandlung und Kontrolle je 1mal ausgeschüttelt waren, die also streng vergleichbar sind, ist die Wuchsstoffmenge durch die Laugenbehandlung anscheinend nicht erheblich vermindert worden, und das gleiche gilt für den Versuch vom 15. 4., wo beide Serien je 2mal ausgeschüttelt waren. Bei den beiden Versuchen mit durch Ausschütteln

vor dem Kochen gereinigten Präparaten, wo also die Behandlung 2mal, die Kontrolle nur 1mal ausgeschüttelt war, und bei dem Versuch am 11. 3. 53, wo 1mal gegen 0mal ausgeschüttelt war, ist der größte Teil des Wuchsstoffes verschwunden, etwas aber immer noch erhalten. Offenbar ist also der natürliche Haferspitzenwuchsstoff gegen die *Behandlung mit Lauge* selbst ziemlich widerstandfähig, aber beim *Ausschütteln* so kleiner Mengen treten erhebliche Verluste auf. Während aber bei Verwendung von Chloroform zum Ausschütteln nach dem Abkochen mit Lauge immerhin stets noch etwas Wuchsstoff übrigbleibt, geht bei Ätherausschüttelung meist aller Wuchsstoff verloren. So zeigte auch bei dem Versuch vom 11. 3., wo die Chloroformausschüttelung nach der Laugenbehandlung einen Wuchsstoffwert von 4,8° gab, eine parallel durchgeführte Ätherausschüttelung keine Spur mehr von Wuchsstoff an.

Man könnte daraus schließen, daß allgemein das Ausschütteln mit Äther wohl verlustreicher sein müsse als das mit Chloroform. Wir erhielten aber beim Ausschütteln des natürlichen Wuchsstoffes bei den Kontrollen im allgemeinen nicht diesen Eindruck. Vielleicht deutet daher dieser Befund auch darauf hin, daß der Haferwuchsstoff durch das Kochen mit Lauge zwar nicht seine Wirksamkeit verliert, daß aber doch dabei mitunter chemische Veränderungen am Molekül vor sich gehen, die den Wuchsstoff jetzt gegen eine erneute Ätherausschüttelung sehr empfindlich machen, aber nicht oder weniger gegen Chloroform.

Diese Ergebnisse führten uns zu einer Überprüfung unserer Methodik an Hand von Versuchen mit Heteroauxin.

3. Das Verhalten des Heteroauxins beim Kochen mit Lauge und Ausschütteln mit Äther oder Chloroform.

Um den Versuchen mit natürlichem Wuchsstoff möglichst entsprechende Verhältnisse zu haben, gaben wir nur 1 Tropfen (etwa 0,01 cm^3) einer alkoholischen Heteroauxinlösung von der Konzentration 1 oder $2:10^6$ zu 1 cm^3 NaOH oder KOH, mit denen dann 3 Std gekocht wurde.

Tabelle 3. *Wirksamkeit geringer Heteroauxinmengen nach Kochen mit Lauge und Ausschütteln mit Äther oder Chloroform.*

Versuch vom	Heteroauxinmenge	Lauge	Ausgeschüttelt mit	Krümmungen im Hafertest	
				Kontrolle °	nach Kochen und Ausschütteln °
21. 2. 53	$2 \cdot 10^{-8}$ g	1/2 n KOH	Äther	37,0	6,9
25. 2. 53	$1 \cdot 10^{-8}$ g	1/2 n KOH	Äther	22,6	0,0
		1/2 n NaOH	Äther	22,6	0,0
28. 2. 53	$1 \cdot 10^{-8}$ g	n NaOH	Äther	26,4	0,0
		n NaOH	Chloroform	10,2	17,2
4. 3. 53	$1 \cdot 10^{-8}$ g	n NaOH	Chloroform	7,4	15,0

Nach Ausschütteln mit Chloroform oder Äther und Abdampfen wurde der mit demselben Lösungsmittel aufgenommene Rückstand auf so viele Agarwürfel (5—10) geträufelt, daß in diesen — ohne Berücksichtigung etwa eingetretener Verluste — eine Heteroauxinkonzentration von $2:10^7$ geherrscht hätte. Zur Kontrolle wurde dieselbe Heteroauxinmenge nur nach Eintrocknen mit Chloroform oder Äther aufgenommen und ebenso aufgeträufelt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 3.

Das Verhalten des Heteroauxins in kleinen Mengen beim Kochen mit Lauge und Ausschütteln entspricht also durchaus dem des natürlichen Haferwuchsstoffes. Mit Äther ist meist kein oder nur wenig Heteroauxin mehr auszuschütteln. Daß das Heteroauxin trotzdem durch das Kochen mit Lauge nicht zerstört ist, zeigen die Versuche mit Ausschütteln durch Chloroform.

Wir fragten uns daher, ob Heteroauxin in sehr geringer Menge und Konzentration überhaupt annähernd quantitativ mit Äther ausgeschüttelt werden könne. Ein Versuch, in dem eine Heteroauxinmenge von $1 \cdot 10^{-7}$ g parallel ausgeschüttelt und unmittelbar aufgeträufelt wurden, ergab keinen Verlust durch das Ausschütteln. Die Menge von $2 \cdot 10^{-8}$ g lieferte dagegen in einem weiteren Versuch bei Ätherausschüttelung keinerlei Ausbeute mehr (Kontrolle 24,3°), wohl aber wenigstens noch etwas Wuchsstoff bei Ausschütteln mit Chloroform (6,6°).

Wie aus allen diesen Versuchen hervorgeht, verhält sich also das Heteroauxin beim Ausschütteln ebenso wie der natürliche Spitzenwuchsstoff *nach Laugenbehandlung*: bei *sehr* kleinen Mengen läßt es sich mit Äther nicht mehr oder doch nur teilweise ausschütteln, während Chloroform bei *diesen* Mengen eine höhere Ausbeute liefert. Das erklärt die auf den ersten Blick so merkwürdigen Ergebnisse über die anscheinend nur teilweise Beständigkeit des Heteroauxins gegenüber dem Kochen mit Lauge. Das Heteroauxin ist offenbar vollständig laugen- und hitzebeständig; die Verluste entstehen erst durch das nachfolgende Ausschütteln mit Äther, der für *sehr* kleine Wuchsstoffmengen ungeeignet ist.

Es mag bemerkt werden, daß in der Literatur wiederholt über Verluste berichtet wird, die das Heteroauxin beim Kochen mit Lauge erleidet. Larsen (1944), der mit Heteroauxinmengen von $(5—60) \cdot 10^{-8}$ g gearbeitet hat, vermutete unkontrollierbare Schwankungen der Versuchsbedingungen, Reinert (1950) eine gewisse Wärmelabilität des Heteroauxins. Beide benutzten Äther zum Ausschütteln.

4. Abdampfversuche mit Diffusionswuchsstoff und Heteroauxin.

Haferspitzenwuchsstoff erwies sich beim Abdampfen mit Salzsäure und Ammoniumhydroxyd erwartungsgemäß als säureempfindlich, aber laugenstabil (Tabelle 4).

Überraschenderweise wurde Heteroauxin (ein reines Präparat der freien Säure) nicht nur durch Salzsäure, sondern auch durch Ammoniumhydroxyd inaktiviert (Tabelle 5).

Es sei noch bemerkt, daß immer nur die 5—10 Agarwürfeln entsprechende Menge abgedampft und auf die Würfel aufgeträufelt wurde.

Tabelle 4. *Wirksamkeit von Haferspitzenwuchsstoff nach Abdampfen mit* H_2O, 4% HCl *und* NH_4OH (etwa 2,5% NH_3).

Versuch vom	Anzahl der Spitzen je Würfel	Krümmungen im Hafertest nach Abdampfen mit		
		H_2O	HCl	NH_4OH
25. 10. 52	15	14,4°	+0,4°	—
30. 10. 52	15	19,5°	0,1°	—
5. 11. 52	18	30,6°	—	42,6°

Die Abfangsdauer des Spitzenwuchsstoffes betrug $1^1/_2$—2 Std.

Dies verschiedene Verhalten von Haferwuchsstoff und Heteroauxin gegenüber dem Ammoniumhydroxyd konnte nun auf einer verschiedenen chemischen Natur beider Stoffe oder auf der Anwesenheit von schützenden Beistoffen im Haferwuchsstoffpräparat beruhen. Daß Beistoffe überhaupt das Ergebnis von Abdampfversuchen stören können, beobachteten wir beim Abdampfen eines Präparates vom Kaliumsalz des Heteroauxins von 85% Reinheit, das dabei seine Wirksamkeit mehr oder minder vollständig verlor, während die reine freie Säure sie behält (s. Tabelle 5).

Tabelle 5. *Wirksamkeit von Heteroauxin nach Abdampfen mit* H_2O, HCl *und* NH_4OH.

Versuch vom	Heteroauxin-konzentration	Krümmungen im Hafertest			
		Wuchsstoff unbehandelt °	nach Abdampfen mit H_2O °	nach Abdampfen mit HCl °	nach Abdampfen mit NH_4OH °
30. 10. 52	$6:10^6$	—	34,0	0,0	—
18. 3. 53	$1:10^6$	20,1	23,1	0,0	0,0
8. 4. 53	$1:10^6$	40,0	31,6	—	+0,8

Eine Entscheidung zwischen den beiden genannten Möglichkeiten mußte durch Kombination einer größeren Heteroauxinkonzentration mit einem Präparat von Haferwuchsstoff gegeben werden können. Beruhte die Widerstandsfähigkeit des natürlichen Haferhormons gegen heißes Ammoniumhydroxyd nur auf der Wirkung schützender Beistoffe, bei Identität des Hormons mit Heteroauxin, so müßte auch synthetisches Heteroauxin durch sie geschützt werden. Das Ergebnis solcher Versuche zeigt die folgende Tabelle 6.

Innerhalb der Fehlergrenzen stimmen die Werte für Haferwuchsstoff, abgedampft mit Wasser, für Haferwuchsstoff abgedampft mit Ammoniumhydroxyd und für das Kombinationspräparat, abgedampft

Tabelle 6. *Wirksamkeit von Haferspitzenwuchsstoff (60 Spitzen/Würfel) und Heteroauxin* ($3:10^6$), *allein und in Kombination, nach Abdampfen mit Ammoniumhydroxyd.*

Versuch vom	Krümmungen im Hafertest				
	nach Abdampfen mit H_2O		nach Abdampfen mit NH_4OH		
	Haferwuchsstoff °	Heteroauxin °	Haferwuchsstoff °	Heteroauxin °	Haferwuchsstoff und Heteroauxin °
21. 4. 53	13,8	26,2	16,0	0,0	17,2
28. 4. 53	20,0	31,8	18,8	0,0	18,0

Die Krümmungswerte sind Mittel aus je 5 Testpflanzen.

mit Ammoniumhydroxyd, überein. Im Kombinationspräparat ist also offensichtlich nur der gegen diese Lauge beständige Haferwuchsstoff wirksam, während das Heteroauxin zerstört ist. Beide Stoffe müssen also chemisch verschieden sein.

Besprechung der Ergebnisse.

In unseren Versuchen wird der aus den Koleoptilenspitzen in Wasser diffundierende Wuchsstoff durch 3stündiges Kochen mit heißer Salzsäure zerstört, bleibt aber bei Behandlung mit heißer Natron- oder Kalilauge ganz oder größtenteils erhalten. Wie die entgegengesetzten Utrechter Ergebnisse zustande gekommen sind, können wir nicht sagen. Wir glauben aber, diese Versuche, die wir trotz aller darauf gerichteten Mühe nicht reproduzieren konnten, auch nicht länger bewerten zu dürfen und halten den „Diffusionswuchsstoff" der Koleoptilen für säureempfindlich, aber laugenstabil. Dieser Wuchsstoff kann demnach nicht, wie früher auch von uns (Söding 1952), auf die Utrechter Versuche fußend, angenommen worden war, mit Auxin *a* oder Auxin *b* identisch sein[1]. Dagegen stimmt das Säure-Lauge-Verhalten des Diffusionswuchsstoffes vollkommen überein mit den Ergebnissen Reinerts (1950) über den mit Äther *extrahierbaren* Wuchsstoff der Koleoptilen. Nur *danach* beurteilt, könnten Diffusions- und Extraktionswuchsstoff identisch sein. Vermutlich handelt es sich aber doch wohl eher um sehr ähnliche, aber doch nicht identische Stoffe, denn nach Wildman und Bonner (1948) wird bereits durch eine Ätherauswaschung das Molekulargewicht des Diffusionswuchsstoffes von 306 auf 206 herabgesetzt. Der so mit Äther „gereinigte" Diffusionswuchsstoff mag allerdings mit dem Extraktionswuchsstoff identisch sein.

[1] Diese Feststellung kann selbstverständlich nicht das überragende Verdienst Kögls verkleinern, die Chemie der Pflanzenwuchsstoffe erforscht und synthetische Wuchsstoffe in die Pflanzenphysiologie eingeführt zu haben. Er irrte aber bei der Identifizierung des natürlichen Haferwuchsstoffes.

Der Extraktionswuchsstoff ist nach Annahme von WILDMAN und BONNER auf Grund des Ausfalles der *Salkowski*-Reaktion und spektrophotometrischer Bestimmung *quantitativ* identisch mit Heteroauxin, und der natürliche Wuchsstoff der Koleoptilen soll jedenfalls in der Hauptsache, wenn vielleicht auch nicht ganz, aus der gleichen Substanz bestehen. Die *Salkowski*-Reaktion kann aber auch von Heteroauxin*derivaten* gegeben werden; auch ist es nicht undenkbar, daß der bei der Reaktion erforderliche Säurezusatz Veränderungen am Wuchsstoffmolekül hervorbringt. Die von REINERT (1950) ins Feld geführte Empfindlichkeit gegen Erbsenenzym und die Gestalt der Wirkungskurve sind gleichfalls kaum hundertprozentig spezifisch für Heteroauxin. Dagegen weist das für den „gereinigten" Diffusionswuchsstoff ermittelte Molekulargewicht von 206 unseres Erachtens auf einen vom Heteroauxin *verschiedenen* Stoff hin (vgl. S. 26). Einen Wuchsstoff von demselben Molekulargewicht (201 ± 6 für in Agar aufgefangenen, 203 für extrahierten Wuchsstoff) haben KRAMER und WENT (1949) in der Tomatenpflanze gefunden; der Wuchsstoff ist ebenfalls säureempfindlich und laugenbeständig und daher vielleicht mit dem „gereinigten" Wuchsstoff der Haferkoleoptilen identisch. LUCKWILL (1952) hat neuerdings den Wuchsstoff des Tomatenstengels chromatographiert und dabei einwandfrei nachgewiesen, daß er *kein* Heteroauxin ist. Überhaupt scheint nach LUCKWILLS Ergebnissen ein vom Heteroauxin verschiedener Wuchsstoff in den höheren Pflanzen verbreitet zu sein. Die Frage, ob der Extraktionswuchsstoff der Koleoptilen Heteroauxin oder ein ihm nur nahestehender Stoff ist, muß unseres Erachtens daher zunächst noch offen bleiben.

Mit Sicherheit kann aber gesagt werden, daß der Diffusionswuchsstoff *kein* reines Heteroauxin ist, da er sich nicht nur durch das doppelt so große Molekulargewicht vom Heteroauxin unterscheidet, sondern auch durch sein Verhalten gegenüber Abdampfen mit Ammoniumhydroxyd. Er ist hiergegen beständig, während Heteroauxin dadurch zerstört wird, ohne daß dabei die Beistoffe des natürlichen Präparates für diesen Unterschied eine Rolle spielen. Auch chromatographisch verhält er sich anscheinend abweichend vom Heteroauxin[1], wie in einer späteren Arbeit ausführlicher berichtet werden soll.

Es fragt sich, ob der Extraktions- oder der Diffusionswuchsstoff das natürliche Wachstumshormon der Koleoptile ist. Nach zahlreichen Ergebnissen an verschiedenen Pflanzenarten scheint das Wachstum dem *abfangbaren* Wuchsstoff weitgehend parallel zu gehen. Auch scheint

[1] *Anmerkung bei der Korrektur:* Weitere chromatographische Versuche zeigten inzwischen die Anwesenheit von 2 Wuchsstoffen, von denen einer mit Heteroauxin identisch sein könnte.

bereits eine Ätherauswaschung Veränderungen am Wuchsstoffmolekül hervorzurufen. Wir sehen daher im Diffusionswuchsstoff den natürlichen Wuchsstoff der Koleoptile, der dann nach dem oben Gesagten als ein mit dem Heteroauxin verwandtes, säureempfindliches und laugenbeständiges Indolderivat betrachtet werden kann, das sich aber vom Heteroauxin durch sein etwa doppeltes Molekulargewicht sowie seine Beständigkeit gegen heißes Ammoniumhydroxyd unterscheidet.

Wildman und Bonner haben die Frage, ob der natürliche Wuchsstoff nicht aus einem Gemisch eines 2. Wuchsstoffes mit vorherrschendem Heteroauxin (wie sie glauben) bestehe, offen gelassen, und v. Guttenberg und seine Schule sprechen von säure- und von laugenfesten Wuchsstoffen. Vor allem bei Dikotylen, doch auch bei der Haferkoleoptile sei wenigstens mitunter bei Alkoholextraktion auch etwas säurefester Wuchsstoff nachzuweisen (v. Guttenberg und Eifler 1952). Wie bereits hervorgehoben, arbeitet unsere Methode nicht verlustlos, und wir können daher die Möglichkeit noch nicht ausschließen, daß wir einen zweiten, nur in sehr geringer Menge vorkommenden oder gegen die notwendigen Handhabungen ganz besonders empfindlichen Wuchsstoff nicht erfaßt haben. Ein irgendwie stärker ins Gewicht fallender Anteil eines säurebeständigen Wuchsstoffes, etwa Auxin *a*, kann nach dem Ausfall unserer Versuche im Spitzendiffusat aber nicht vorhanden sein (oder es müßte sich schon um einen mit Chloroform oder Äther durchaus nicht ausschüttelbaren Stoff handeln). Überhaupt ergeben unsere Versuche *vollständige* Labilität gegenüber heißer Salzsäure oder Stabilität gegenüber Ammoniumhydroxyd und anscheinend auch gegenüber Natronlauge, erwecken also den Eindruck eines einheitlichen Stoffes und nicht den eines Gemisches verschieden reagierenden Substanzen. Allerdings könnte es sich auch um ein Gemisch ähnlicher und in den geprüften Beziehungen gleich reagierender Verbindungen handeln mit gleicher oder ähnlicher physiologischer Wirksamkeit. Naturgemäß kann unsere Arbeitsweise, eine Verbindung chemischer Methoden mit biologischen Testen, Veränderungen am Molekül, die die physiologische Wirksamkeit nicht wesentlich verändern, überhaupt nicht erfassen. Die Frage, ob der natürliche Wuchsstoff der Koleoptile eine einheitliche Substanz oder ein Gemisch ist, muß daher zunächst noch offen bleiben. Es mag aber daran erinnert werden, daß ja eine Reihe mit dem Heteroauxin verwandter Stoffe als natürlich vorkommende Wuchsstoffe erkannt sind wie der Aldehyd (Larsen 1944), ein Ester (Redeman, Wittwer und Sell 1951) und das Nitril (Jones, Henbest, Smith und Bentley 1952) und daß neuerdings Linser (1951) aus Kohl 3 Wuchsstoffe isoliert hat, alles Befunde, die auch die Möglichkeit eines Gemisches von Wuchsstoffen als nicht ausgeschlossen erscheinen lassen.

Zusammenfassung.

1. Der aus der Spitze der Haferkoleoptile in Wasser auffangbare Wuchsstoff wird durch 3stündiges Kochen mit n HCl zerstört, erträgt dagegen 3stündiges Kochen mit n NaOH. Er kann daher nicht Auxin *a* oder *b* sein.

2. Durch Abdampfen mit HCl wird der Haferwuchsstoff gleichfalls zerstört; gegen dieselbe Behandlung mit verdünnter NH_4OH ist er aber beständig, während Heteroauxin hierdurch inaktiviert wird. Der Haferwuchsstoff kann demnach auch nicht mit Heteroauxin identisch sein.

3. Es wird dargelegt, daß der Haferwuchsstoff ganz oder größtenteils als ein mit dem Heteroauxin verwandtes Indolderivat anzusehen ist, das sich aber durch sein größeres Molekulargewicht und sein Verhalten gegen NH_4OH vom Heteroauxin unterscheidet, oder als ein Gemisch solcher Stoffe.

Diese Untersuchung wurde mit Unterstützung der deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Literatur.

Bonner: Plant Biochemistry. New York 1950. — Bonner and Bandurski: Annual Rev. Plant Physiol. **3**, 59 (1952). — Guttenberg, v. u. Eifler: Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 387 (1952). — Heyn: Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. **38**, 1074 (1935). — Jones, Henbest, Smith and Bentley: Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — Kögl, Haagen-Smit u. Erxleben: Hoppe-Seylers Z. **228**, 104 (1934). — Kramer and Went: Plant Physiol. **24**, 207 (1949). — Larsen: Dansk bot. Ark. **11** (1944). — Linser: Planta (Berl.) **39**, 377 (1951). — Luckwill: Nature (Lond.) **169**, 375 (1952). — Raadts: Planta (Berl.) **40**, 419 (1952). — Redeman, Wittwer and Sell: Arch. of Biochem. a. Biophysics. **32**, 80 (1951). — Reinert: Z. Naturforsch. **5b**, 374 (1950). — Söding: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — Went: Rec. trav. bot. néerl. **25**, 1 (1928). — Wildman and Bonner: Amer. J. Bot. **35**, 740 (1948).

Prof. Dr. Hans Söding, Hamburg, Jungiusstr. 6.

Dr. Edith Raadts, Hamburg, Jungiusstr. 6.

Planta, Bd. 43, S. 37—74 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

BEITRÄGE ZUR KENNTNIS DER WUNDSIEBRÖHREN-ENTWICKLUNG BEI *IMPATIENS HOLSTI**.

Von

WALTER ESCHRICH.

Mit 27 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Juni 1953.)

I. Einleitung.

Die Wundheilung unterbrochener Leitbündel, wie sie z. B. auch bei jeder Pfropfung oder Stecklingsbewurzelung eintreten muß, stellt den Entwicklungsphysiologen vor eine Fülle reizvoller Probleme. Während für die Ausbildung von Gefäßbrücken zwischen den durchtrennten Leitbündeln bereits eine größere Anzahl von Beobachtungen vorliegt, ist unser Wissen über die Regeneration von Siebröhrenverbindungen noch äußerst gering. Erst die grundlegende Arbeit von A. v. KAAN-ALBEST (1934) hat gezeigt, daß nicht nur das oft Monate nach der Verletzung entstehende Wundmeristem neue Siebröhrenverbindungen zu bilden vermag, sondern daß bei Durchtrennung nur eines Teils der Leitbündel oft schon innerhalb weniger Tage durch „Wundsiebröhren", die mit unverletzten Leitbündeln seitliche Anastomosen bilden, Brücken ausgebildet werden können.

Die vorliegende Arbeit versucht, über die von v. KAAN-ALBEST gewonnenen Ergebnisse hinaus einige entwicklungsphysiologische Fragen der Siebröhrenbildung und Siebröhrenfunktion mit neuer Methodik anzugreifen. Gerade beim Studium der Regeneration unterbrochener Leitbündel drängt sich ja immer wieder die Frage auf, ob die durch die Wunde unterbrochenen, gestauten oder irgendwo aus der verletzten Leitbahn austretenden natürlichen Stoffströme den Anreiz und die Direktion für die sich neu gestaltende Brückenbildung liefern. Noch hat zwar niemand diese hypothetischen Stoffströme, die ja nicht nur aus Assimilaten, sondern auch aus Wuchsstoffen, Wundstoffen oder gar organbildenden Substanzen bestehen könnten, gesehen. Es schien jedoch verlockend, für die spezielle Frage nach der Entstehung von Siebröhrenverbindungen einmal die fluoreszierenden Siebröhrenfarbstoffe SCHUMACHERs einzusetzen. Es ließ sich erwarten, daß auf diesem Wege vielleicht eine Grundfrage jeder Entwicklungsphysiologie der Beantwortung

* Auszug aus einer von der Hohen Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn angenommenen Dissertation.

nähergebracht werden könnte, nämlich die, ob die Regeneration und Differenzierung dort einsetzt, wo austretende Stoffströme sich im Wundgewebe eine neue Bahn suchen und daher der Funktionswechsel in diesem Gewebe die neue Gestaltsbildung induziert, oder ob die Differenzierung solcher neuer spezifischer Leitbahnen ein von ganz anderen Faktoren gelenktes Ereignis ist, das der späteren Leitfunktion der sich differenzierenden Elemente vorauseilt. Es mußte auch von Interesse sein, den Zeitpunkt der Aufnahme einer Farbstoffleitung in den neuen Regeneraten mit dem Grad der erreichten anatomischen Differenzierung zu vergleichen, zumal darüber bei Siebröhren noch nichts bekannt ist und die Frage, wieweit der Kernverlust und die sonstigen plasmatischen Veränderungen bei der Entwicklung einer Siebröhre etwas mit ihrer Leitfunktion zu tun haben, eine gewisse Bedeutung auch für die Aufklärung des Transportmechanismus besitzt. Daß dabei eine Fülle von anatomischen Einzelfragen, die in der Arbeit von v. KAAN-ALBEST noch keine hinreichende Klärung gefunden haben, mitbearbeitet werden mußte, lag in der Natur der neuen Fragestellung. Im folgenden soll über die dabei erzielten Ergebnisse berichtet werden.

Die Untersuchungen wurden in den Jahren 1950—1952 im Botanischen Institut der Universität Bonn auf Anregung meines verehrten Lehrers, Herrn Professor Dr. W. SCHUMACHER, dem ich für die Förderung und stete Betreuung auch an dieser Stelle danken möchte, durchgeführt.

II. Untersuchungen über die Anatomie der Wundsiebröhren.

1. Material und Methodik.

Geglückte Transplantationen sind von vielen Pflanzen bekannt, man denke z. B. an die Veredlung der Obstbäume. Ebenso ist die Erscheinung der Regeneration bei Stecklingen im Pflanzenreich weit verbreitet. Jedoch eignen sich nur wenige Pflanzen für eine eingehende Untersuchung der Wundsiebröhrenentwicklung. Bei der Auswahl wurde Wert darauf gelegt, Pflanzen mit isoliert verlaufenden Leitbündeln zu finden, die ein interfaszikuläres Kambium besitzen und leicht schneidbar sind. Ihre Siebröhren müssen im mikroskopischen Bild gut zu erkennen sein. Als besonders geeignet erwiesen sich die Balsaminaceen *Impatiens Holsti* und *Impatiens Sultani*. In zweiter Linie wurde *Coleus hybridus* benutzt. Schließlich wurden die Cucurbitaceen *Cucurbita Pepo*, *Cyclanthera explodens* und *Bryonia dioica*, sowie *Tropaeolum majus*, *Sinningia purpurea* und *Klugia Notoniana* auf ihre Eignung geprüft.

Alle Angaben dieser Arbeit beziehen sich auf *Impatiens Holsti*, wenn keine andere Pflanze ausdrücklich vermerkt ist.

Die drei *Cucurbitaceen* und *Tropaeolum majus* wurden im Freiland angezogen. Die übrigen genannten Versuchspflanzen wurden als Stecklinge vermehrt und im

mäßig erhellten Gewächshaus, teilweise im Halbdunkel bis zu einer Höhe von 30—40 cm herangezogen, wobei die Blütenknospen ständig entfernt werden mußten, um möglichst lange Internodien zu erhalten.

Die mikroskopischen Zeichnungen wurden mit Hilfe des ABBEschen Zeichenapparates hergestellt. Sie sind so abgedruckt, daß die Sproßspitze oberhalb der Zeichnung zu denken ist. Bei dem Legendenvermerk „basaler Regenerationsbezirk" befindet sich die Wunde unterhalb, bei „apikaler Regenerationsbezirk" oberhalb der Zeichnung. Kallose ist immer schwarz dargestellt.

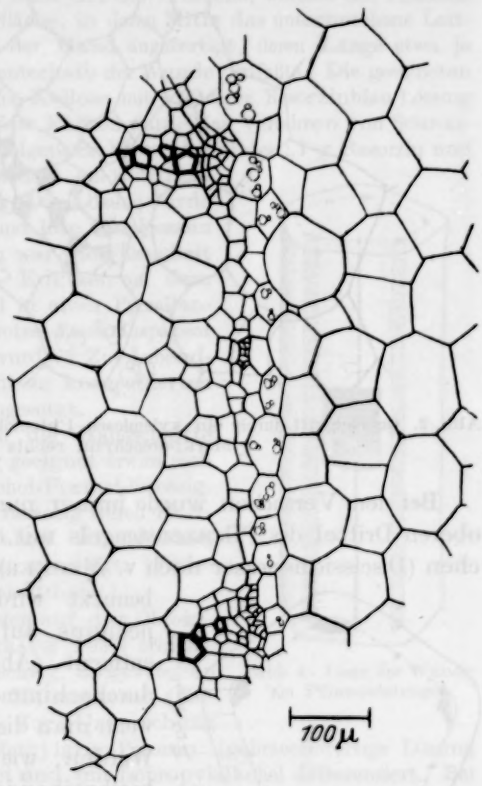


Abb. 1. Ausschnitt aus einem Querschnitt der oberen Stengelhälfte. Zwischen zwei Leitbündeln liegt der Prokambiumring und ein xylemloses Siebbündel. Links das Markparenchym, rechts vom Prokambium die Stärkescheide und die Rinde.

Impatiens Holsti besitzt im Vegetationsscheitel einen geschlossenen Prokambiumring (KOSTYTSCHEW 1924), der sich zunächst nur in den Blattspuren zu einem Reihenkambium entwickelt. Siebröhren und Gefäße werden also nur in diesen Blattspuren gebildet. Die interfaszikulären Prokambiumzellen nehmen erst viel später meristematischen Charakter an. Zunächst runden sie sich ab und ähneln den Markparenchymzellen, haben jedoch geringere Größe (Abb. 1). In diesem und dem folgenden Stadium sind diese Prokambiumzellen oft von der Vegetationsspitze bis zur Mitte des Stengels anzutreffen; sie sollen in der Folge stets kurz als „Kambiumzellen" bezeichnet werden. Erst im unteren Teil des Stengels erfolgt die Ausbildung des regulären interfaszikulären Reihenkambiums, das 3—5 Zellen stark werden kann. In diesem Kambium treten zwischen 2 xylemführenden Leitbündeln stets 1—3 xylemlose Phloembündel auf (Abb. 1 bis 3). Durch die Tätigkeit des regulären Kambiums wird schließlich ein umfangreicher Holzring ausgebildet. Die Ausbildung eines geschlossenen Bastringes unterbleibt, die Leitbündel bleiben immer voneinander getrennt.

Der Querschnitt des Stengels zeigt in jeder Zone einen fünfeckigen Umriß. Innerhalb der 5 Ecken liegen die 5 Eckbündel mit Xylem. In der Mitte zwischen den Eckbündeln befinden sich weniger umfangreiche, jedoch xylemführende Leitbündel, „Mittelbündel" genannt (Abb. 3).

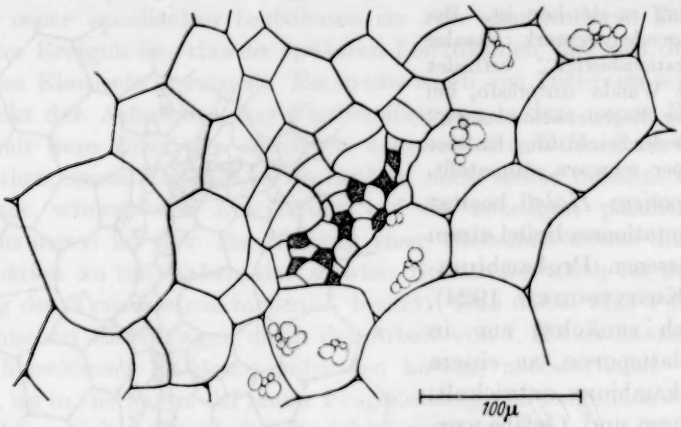


Abb. 2. Querschnitt durch ein xylemloses Phloembündel (Siebröhren punktiert). Links Markparenchym, rechts Stärkescheide.

Bei den Versuchen wurde immer nur eines dieser Mittelbündel im oberen Drittel des Pflanzenstengels mit einem zweischneidigen Messerchen (Discissionsmesser nach v. WECKER), wie es in der Augenchirurgie benutzt wird, in der Mitte eines Internodiums auf eine Strecke von 1—2 mm entfernt (Abb. 4). Dies gelingt bei dem durchschimmernden *Impatiens*stengel gut, wenn man die Pflanze gegen das Licht hält. Wurden, wie dies in einem der später zu beschreibenden Versuche der Fall war, einer Pflanze mehrere Wunden beigebracht, so betrafen diese stets dasselbe Leitbündel. Von einer Durchtrennung mehrerer Leitbündel in gleicher Höhe wurde deshalb Abstand genommen, weil die bald einsetzende Kallusproduktion eine Verkrümmung des Stengels zur Folge hat und hierdurch die zur Untersuchung erforderliche parallele Schnittführung durch beide, den basalen und apikalen Regenerationsbezirk unmöglich gemacht wird. Außerdem ist der Beginn der Wundsiebröhren an dem schwächeren Mittelbündel leichter zu finden als an den dicken Eckbündeln, deren etwas gekrümmter Siebteil leicht bei Tangentialschnitten durch einen Streifen Xylem von den Wundsiebröhren getrennt wird.

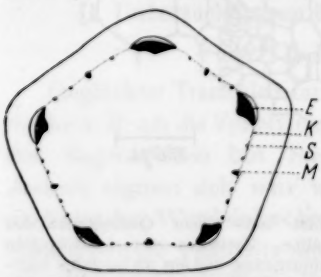


Abb. 3. Stengelquerschnitt. Verteilung der Leitbündel: *E* Eckbündel, *K* Kambium, *S* xylemloses Phloembündel, *M* Mittelbündel.

Die Wunde blieb am besten unverschlossen. (Ausspülungen mit Wasser oder Verschmieren der Wunde mit reiner Vaseline oder Penicillinsalbe (PS-Salbe der Firma Grünenthal, Stolberg i. Rhl.) hatten lediglich eine verminderte Kallusproduktion zur Folge. Ein Einfluß auf die Ausbildung der Wundsiebröhren konnte hierbei nicht beobachtet werden.)

Nach einer bestimmten Zeit, je nach Art des Versuchs, wurden die Pflanzen zerlegt und parallel zur Stengeloberfläche, in deren Mitte das unterbrochene Leitbündel lag, Tangentialschnitte mit der Hand angefertigt, deren Länge etwa je einen halben Zentimeter ober- und unterhalb der Wunde umfaßte. Die geeigneten Schnitte wurden zur Darstellung der Kallose mit wäßriger Resorzinblau-Lösung behandelt und lebend untersucht. Zum Färben wurde das Verfahren von SCHNEIDER-ZIMMERMANN (1922, S. 217) in folgender Weise abgeändert: 1 g Resorzin und 0,5 g Borax wurden in 250 cm³ Aqua dest. gelöst. Hinzu kam 1 cm³ konzentriertes Ammoniak. Die Lösung wurde $^1/_2$ Std auf dem Wasserbad erhitzt und lose verschlossen stehengelassen. Nach einigen Tagen war die Flüssigkeit dunkelblau. Nach 1—2stündigem Erhitzen auf dem Wasserbad wurde heiß filtriert und in einer Porzellanschale eingedampft, bis feuchtes rotes Lackmuspapier nicht mehr vom Dampf gebläut wurde. Zur Lebendfärbung wurde jeweils frisch von dieser konzentrierten Lösung 1 Tropfen 20 cm³ Wasser zugesetzt.

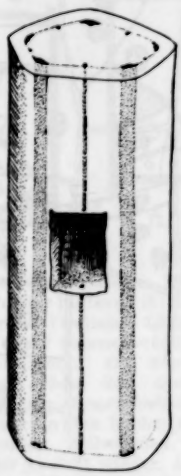


Abb. 4. Lage der Wunde am Pflanzenstengel.

Zur Kernuntersuchung wurden die Handschnitte fixiert. Als besonders zur Fixierung geeignet erwies sich das von ESAU (1948) benutzte Alkohol-Formol-Eisessig-Gemisch mit der Abänderung, daß Eisessig durch Holzessig ersetzt wurde: 90 cm³ 70%iger Äthylalkohol, 5 cm³ Formol und 5 cm³ Holzessig, gereinigt. (Fixierungsdauer: 3—12 Std, je nach Objektdicke.)

Die gewässerten Präparate wurden auf dem Objektträger mit Karmin-Essigsäure (STRAUB 1937) erhitzt, mit Eisessig und Aqua dest. vorsichtig ausgewaschen und mit wenig Resorzinblau in Kaliumazetat (ROMEIS 1948, § 808) eingeschlossen. Zur Untersuchung der Geleitzellkerne wurde mit Methylgrün-Pyronin (gebrauchsfertige Lösung der Firma Dr. Grübler & Co.) gefärbt und mit Isopropylalkohol differenziert. Bei in Kaliumazetat eingeschlossenen Präparaten, die mit Resorzinblau behandelt sind, steigerte sich die Kallosefärbung in 24 Std zur endgültigen Farbintensität, die nach $2^1/_2$ Jahren noch keine Minderung zeigte. Die Kallosefärbung hält sich in Gummisirup (ROMEIS 1948, § 812) gut, jedoch nicht in Glyzerin und glyzerinhaltigen Einschlußmitteln.

Von der Herstellung von Paraffinpräparaten wurde nach eingehenden Vorversuchen Abstand genommen, weil die Zellwände dabei zu stark entwässert wurden, außerdem verhindert der Einschluß in Caedax oder Kanada-Balsam ein Zustandekommen der Resorzinblau-Färbung. Brauchbare wasserlösliche Einbettungsmittel wurden leider erst nach Abschluß der Experimente bekannt.

Zur Lebendbeobachtung von Kernen erwies sich eine schwache Anfärbung mit Orcein (Herstellung aus Orcin, Borax und Ammoniak entsprechend Resorzinblau) als günstig. Orcein färbt neben Kallose auch Kerne rot.

Zur Vitalfärbung junger Wundsiebröhren wurde Neutralrot „stand." verwendet. 3 Tropfen einer 1%igen Stammlösung auf 20 cm³ Aqua dest. riefen nach 10—20 min die gewünschte Färbung hervor.

2. Die Entwicklung der Wundsiebröhre.

Mit dem Ausdruck „Wundsiebröhre" sei im folgenden die nach einer Verwundung entstandene Siebröhrenverbindung von Bündel zu Bündel in ihrer ganzen Länge, als „Wundsiebelement" das einzelne Glied der Brücke bezeichnet. Die Wundsiebröhre setzt sich also aus einer Serie von Wundsiebelementen zusammen. Von der namentlich in älteren Arbeiten gebräuchlichen Bezeichnung „Kallus" für Kallose der Siebröhren wurde Abstand genommen, um Verwechslungen mit dem Kallusgewebe der Wundränder zu vermeiden.

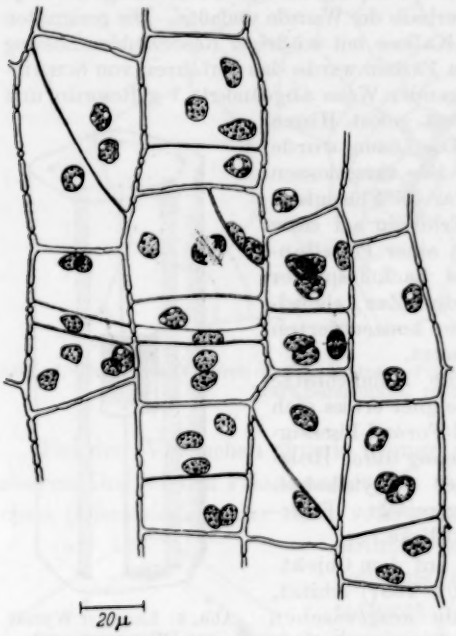


Abb. 5. Teilstück eines basalen Regenerationsbezirkes, am 2. Tage nach der Verwundung (Juni) mit 1—4 Kernen je Zelle. Tangentialschnitt.

Das Wundsiebelement hat meist dreieckigen, vielfach trapezförmigen und ab und zu polygonalen Querschnitt. Es wird innerhalb einer Kambiumzelle (eigentlich einer Prokambiumzelle, die noch markparenchymatische Form besitzt, vgl. vorangegangene Begriffsbestimmung auf S. 39) ausgebildet. Selten — hauptsächlich längere Zeit nach der Verwundung — treten auch im Kallusgewebe Wundsiebröhren auf, aber niemals im Markparenchym und in der Stärkescheide.

Der Ort der Entstehung ist zunächst an wiederholten Kernteilungen einiger benachbarter Kambiumzellen zu erkennen. Dabei kommt es vor, daß schließlich bis zu 4 Kerne nebeneinander in einer Zelle enthalten sind, bevor eine Wandbildung zu erkennen ist (Abb. 5).

Solche Mitosen lassen sich aber auch in einigen benachbarten Zellen beobachten, die an der später einsetzenden Siebelementbildung nicht unmittelbar beteiligt werden.

Die Orientierung der ersten Zellwand im Kambiumzellraum zeigt keinerlei Gesetzmäßigkeiten. Sie kann alle Stellungen gegenüber der Stengelachse einnehmen. Doch befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft der Ansatzstellen dieser neuen Zellwand an der alten Kambiumzellwand stets mehrere, dicht aneinandergelagerte Tüpfel in den radialen Längswänden der Kambiumzelle. Sehr selten ist nur ein einzelner Tüpfel zu sehen.

Wie weiter unten noch ausführlicher beschrieben wird, bestehen offenbar Zusammenhänge zwischen den Tüpfeln und den zu bildenden Siebplatten. Der allgemeine Verlauf der Wundsiebröhren in tangentialer Richtung, also parallel zur Stengeloberfläche, bringt es ja mit sich, daß die späteren Siebplatten vor allem in den radialen Längswänden der Wundsiebröhren gebildet werden. Aber auch in den tangentialen Längswänden werden zuweilen Siebplatten angelegt, so daß in diesen Zellen die Wände des Wundsiebelements dann senkrecht zur Stengeloberfläche orientiert sind. In diesen Fällen wechselt die spätere Wundsiebröhre in eine benachbarte Kambiumzellschicht hinüber.

Zuweilen findet man Kambiumzellen, deren Teilungstätigkeit offenbar mit der Bildung einer einzelnen Wand für lange Zeit, vielleicht für immer, abgeschlossen ist. Pflanzen mit 2 Monate alter Wunde, die bereits ein Wundmeristem gebildet haben, zeigen z. B. oft noch diese Entwicklungsstadien.

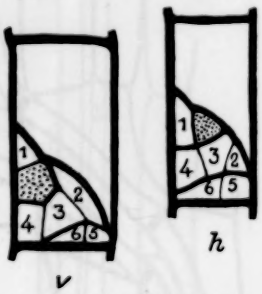


Abb. 6. Schematische Darstellung der hinteren (*h*) und vorderen (*v*) radialen Längswand einer regenerierenden Kambiumzelle. Die Zeichnungen geben den Querschnitt der Regenerationsprodukte an den beiden begrenzenden Zellwänden in radialer Ansicht wieder. Abnehmende Umrandungsdicke gibt die Aufeinanderfolge der Regeneratbildung an. Querschnitte des Wundsiebelements punktiert dargestellt.

Die weitere Entwicklung eines Wundsiebelementes geht jedoch in der Regel so vor sich, daß in einem der beiden Teile der ursprünglichen Kambiumzelle weitere Zellwände gebildet werden, deren Längskanten den Kanten der ersten Teilungswand, die die ursprüngliche Kambiumzelle in 2 Teile zerlegt hat, mehr oder weniger parallel verlaufen.

Die zeitliche Aufeinanderfolge der Zellwandbildung ist in 2 radialen Längsschnitten in Abb. 6 durch abnehmende Wanddicke dargestellt. Die Zeichnungen geben den jeweiligen Querschnitt der tangential verlaufenden Regenerationsprodukte an der vorderen (*v*) und hinteren (*h*) radialen Zellwand wieder. Die Anzahl der das Wundsiebelement (punktiert!) umgebenden Zellen variiert sehr stark. Dabei besteht weder zum Alter der Wundsiebröhre ein Verhältnis, noch stimmt ihre Zahl mit derjenigen der benachbarten, regenerierenden Kambiumzellen überein. So kann eine bereits lange Zeit funktionstüchtige Wundsiebzelle das einzige Teilungsprodukt ihrer Wirtszelle darstellen, ihr benachbartes Wundsiebröhrenglied jedoch kann von vielen, bis zu 7, schmalen Zellen innerhalb der Wirtszelle umgeben sein. Vielfach trifft man in einer Kambiumzelle 2 Wundsiebelemente an, die nicht immer eine gemeinsame Längswand besitzen (Abb. 7).

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß keinesfalls die schmale parallelwandige Zellform für die Wundsiebelemente typisch ist. Abgesehen

von dem mannigfaltig in der Form abgeänderten Typ mit 2 Siebplatten, treten hauptsächlich bei sich verzweigenden Wundsiebröhren an der Gabelungsstelle „dreipolige" oder „vierpolige" (Abb. 8) Wundsiebelemente auf, d. h. diese Elemente bilden 3 oder 4 Siebplatten aus, an die sich eine entsprechende Zahl von Siebröhren anschließt.

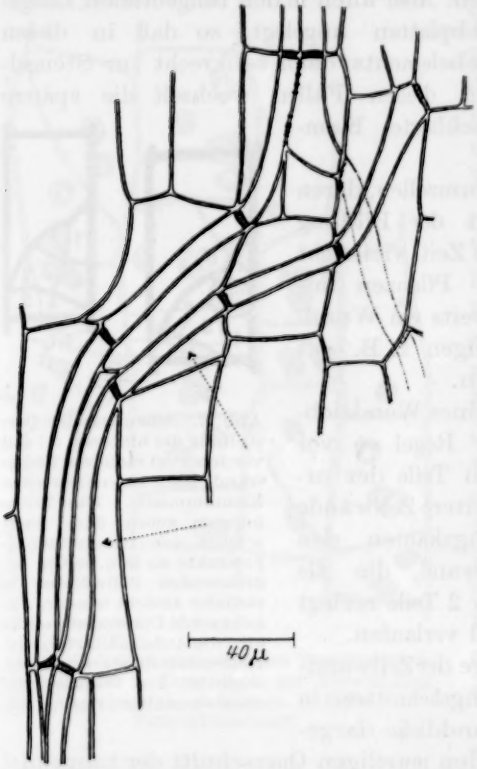


Abb. 7. In 2 Kambiumzellen (Pfeile) verlaufen je 2 Wundsiebelemente ohne gemeinsame Längswände. Tangentialschnitt.

Über die Aufgabe der die Wundsiebelemente begleitenden schmalen Zellen, deren Auftreten keiner Gesetzmäßigkeit zu unterliegen scheint, läßt sich schwer eine definitive Aussage machen. Sie sind erst dann von den Wundsiebelementen zu unterscheiden, wenn in letzteren Siebplatten angelegt werden. Die Annahme liegt nahe, daß sie als Geleitzellen in Funktion treten könnten. Diese Möglichkeit ist zwar von v. KAAN-ALBEST (1934) in Abrede gestellt worden. Nun konnte bei der Durchmusterung ungezählter Frischpräparate von *Impatiens Holsti* immer wieder beobachtet werden, daß in den normalen Leitbündeln die Kerne der mit Sicherheit als Geleitzellen anzusprechenden Zellen eine charakteristische Form aufweisen. Diese Kerne erscheinen, wie Abb. 9 es zeigt, im Schnitt viereckig bis sanduhrförmig. Sie füllen den gesamten Querschnitt der Zelle aus, wie dies auch bei anderen Pflanzen, so z. B. bei *Pelargonium* (SCHUMACHER 1930) beschrieben wurde. Weiterhin erscheinen sie im Frischpräparat, wie im fixierten und mit Methylgrün-Pyronin gefärbten Präparat, homogen gegenüber allen anderen Zellkernen, die sich durch deutlich erkennbare Nucleolen und Chromozentren auszeichnen.

Auch in Begleitung von Wundsiebelementen wurden nun wenigstens in gewissen Zellen derartig veränderte Kerne beobachtet. Anatomisch dürfte der Ausbildung von „Wundgeleitzellen" ja nichts im Wege stehen.

So könnte Zelle Nr. 1 in Abb. 6 ohne weiteres von der Wundsiebmutterzelle abgespalten worden sein.

Auch ein weiteres Charakteristikum der normalen Bündelgeleitzellen von *Impatiens Holsti* läßt sich ebenso an den vermutlichen „Wundgeleitzellen" feststellen: In der Aufsicht, wie in der Seitenansicht sind die Enden der Geleitzellen abgerundet (Abb. 9), selten enden sie in gleicher Höhe, meist etwas vor der Siebplatte. Sie sind

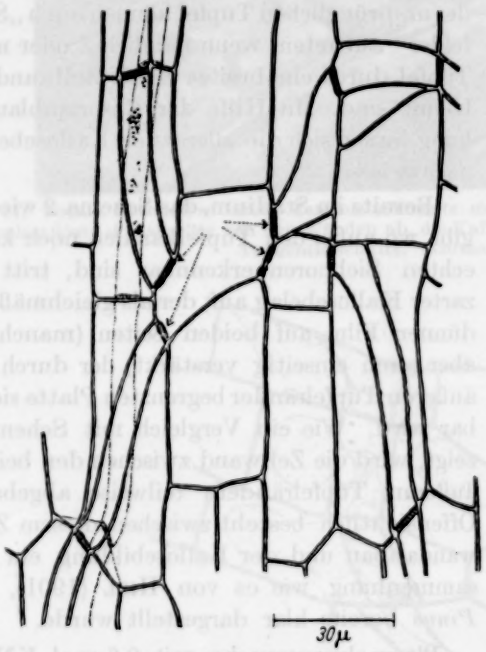


Abb. 8.

Abb. 9.

Abb. 8. Vierpoliges Wundsiebelement mit 4 Siebplatten (Pfeile) und daran anschließenden Wundsiebröhren. Tangentialschnitt.

Abb. 9. Geleitzellen einer Bündelsiebröhre, in der Mitte in Aufsicht. Der Kern hat die charakteristische viereckige Form. Tangentialschnitt.

also kürzer als die zugehörigen Siebröhren. Dasselbe trifft auch für die vermuteten „Wundgeleitzellen" zu.

Aus dem an anderen Objekten beobachteten Reichtum an Inhaltsstoffen lassen sich hier insofern keine Schlüsse ziehen, als die Bündelgeleitzellen von *Impatiens Holsti* ebenso wie die „Wundgeleitzellen" keine auffallenden Inhaltsstoffe haben. Ein weiteres Charakteristikum der Geleitzellen, die Fähigkeit, Fluorochrome aus den zugehörigen Siebröhren aufzunehmen, soll erst an anderer Stelle besprochen werden.

Wie bereits erwähnt, befinden sich in unmittelbarer Nähe der ersten Teilungswand Tüpfel in der alten radialen Kambiumzellwand. Diese werden von den folgenden Wandbildungen so eingekreist, daß sie mehr oder weniger in der Mitte der Wundsiebelementwand liegen, gerade dort, wo später die Siebplatte gebildet wird. Vergleiche von Wundsiebröhren verschiedenen Entwicklungsalters machen es wahrscheinlich (Abb. 10), daß die Siebplatten unter Einbeziehung und Erweiterung von mehreren benachbarten Tüpfeln ausgebildet werden. Je nach Lage der ursprünglichen Tüpfel können auch „Siebfelder" auftreten, wenn nämlich 2 oder mehr Tüpfel durch ein breites Stück Zellwand getrennt sind. Mit Hilfe der Resorzinblaufärbung lassen sich die allerersten Kallosebeläge nachweisen.

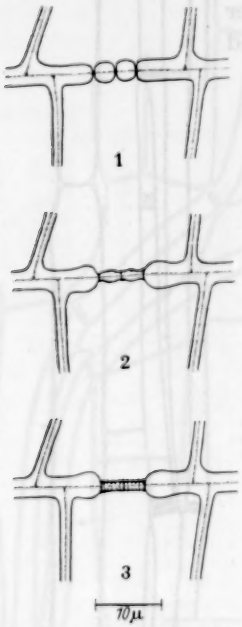


Abb. 10. Schematische Darstellung der Siebplattenbildung aus Tüpfeln bei Wundsiebröhren. *1* Tüpfel, *2* Beginn der Kalloseproduktion und Abbau der Zellmembran, *3* Siebplatte kurz vor der Fertigstellung.

Bereits im Stadium, das Schema 2 wiedergibt, wo außer den Tüpfelkanälen noch keine echten Siebporen erkennbar sind, tritt ein zarter Kallosebelag auf, der als gleichmäßiger dünner Film auf beiden Seiten (manchmal aber auch einseitig verstärkt) der durch die äußeren Tüpfelränder begrenzten Platte sichtbar wird. Wie ein Vergleich mit Schema 1 zeigt, wird die Zellwand zwischen den beiden äußeren Tüpfelrändern teilweise abgebaut. Offensichtlich besteht zwischen diesem Zellwandabbau und der Kallosebildung ein Zusammenhang, wie es von HILL (1901), für *Pinus* bereits klar dargestellt wurde.

Plasmolyseversuche mit 0,6 mol KNO_3-Lösung und 1 mol Rohrzuckerlösung ergaben, daß Wundsiebelemente, deren Siebplatten noch verhältnismäßig dünne, mit Hilfe der Resorzinblaufärbung gerade als feine blaue Striche zu erkennende, durchgehende Plasmastränge aufwiesen, totale Plasmolyse zeigten, d. h. der Protoplast löste sich allseitig, auch an der „Siebplatte", von den umgebenden Wänden ab (Abb. 11). In Abb. 12 ist die Plasmolyse (in diesem Falle war 1 mol KNO_3-Lösung das Plasmolytikum, daher die krampfartige Plasmolyseform) und anschließende Deplasmolyse zweier Wundsiebelemente wiedergegeben, die deutlich erkennen lassen, daß die spätere Platte noch keinen besonderen „Haftort" für das Plasma darstellt. Die Kallose selbst blieb dabei an der Zellwand haften, sie zog sich nicht mit dem Protoplasten zurück. Haben die Plasmastränge in der künftigen Siebplatte jedoch eine

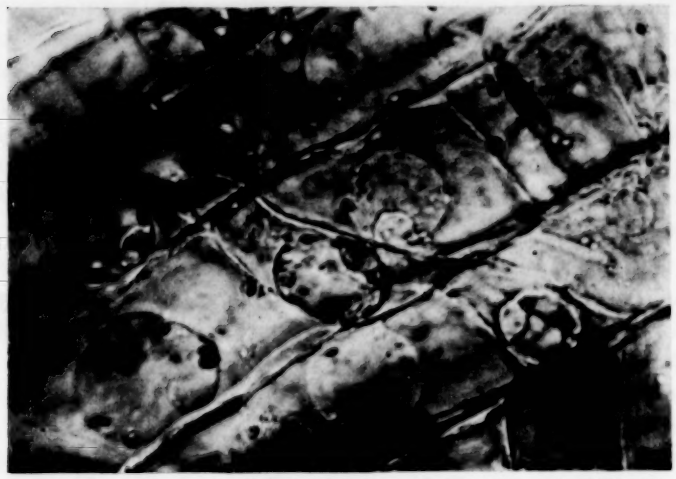


Abb. 11. Totale Plasmolyse eines Wundsiebelements mit 0.6 mol KNO_3-Lösung. Der Protoplast löste sich allseitig von den Wänden ab, die Kallose blieb an den Wänden haften. Tangentialschnitt. (830 mal.)

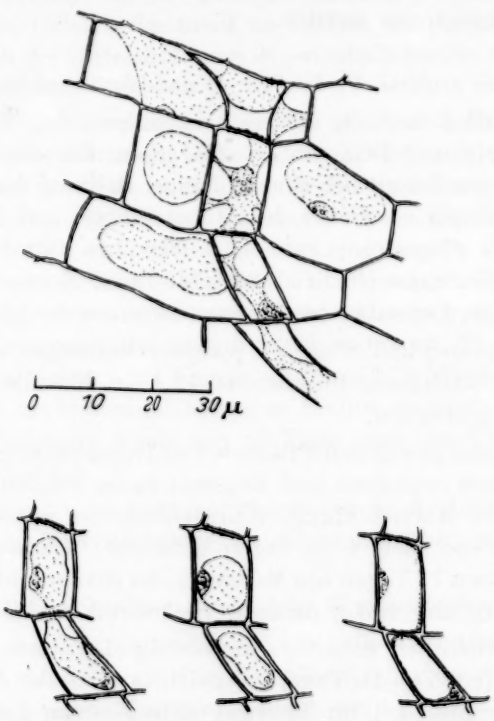


Abb. 12. Plasmolyse (oben) mit 1 mol KNO_3-Lösung, unten Deplasmolyse. Schwarzer Belag an den Stirnwänden der schmalen Wundsiebröhrenelemente: Kallose. Tangentialschnitt.

gewisse Dicke erreicht, so löst sich bei Plasmolyse der Protoplast nur noch von den Längswänden ab. Es scheint also ausschließlich von der Dicke der Siebporenstränge bzw. von dem Zeitpunkt, von dem ab hier zusammenhängende Plasmastränge die *offene* Pore durchsetzen, abzuhängen, welche Form der Plasmolyse eintritt. Wie aus den späteren Ausführungen hervorgeht, geht mit diesen, in der Plasmolyseform zum Ausdruck kommenden Veränderungen die Aufnahme der Leitfunktion Hand in Hand.

Die von den normalen Siebröhren her bekannte Auflösung der Zellkerne beginnt in den Wundsiebröhren erst lange nach Fertigstellung der Siebplatten (vgl. S. 49). Der zunächst runde bis eiförmig-ellipsoidische Kern, der sich von den übrigen Zellkernen des Gewebes nicht unterscheidet, nimmt allmählich Spindelform an und legt sich an eine Längswand an, wo er dann als uhrglasförmige Verdickung erscheint. Sein Volum verringert sich und seine Form wird flacher. Schließlich erscheint er nur noch als dünner Belag an der Zellwand ohne Nucleolus und Chromozentren. Eine nähere Untersuchung der Abbauvorgänge wurde nicht vorgenommen. Auf die Zusammenhänge mit der Leitfunktion wird später eingegangen werden.

3. Der zeitliche Verlauf der Wundsiebröhrenbildung.

Großen Einfluß auf die Entwicklungsdauer der Wundsiebröhren haben Jahreszeit und Temperatur. So gelten für die Anzuchten im Gewächshaus vom Setzen der Wunde bis zur Bildung der ersten Wundsiebröhren bei *Impatiens Holsti*, *Impatiens Sultani* und *Coleus hybridus* folgende Daten (Tagestemperaturen): März bis Oktober (18—28° C) 4—5 Tage, Hochsommer (mehr als 26° C) 3 Tage, November (17—19° C) mindestes 7 Tage, Dezember bis Februar (selten unter 15° C) 5—7 Tage.

Klugia Notoniana und *Sinningia purpurea* benötigen in den Sommermonaten im Gewächshaus mindestens 12 Tage bis zum Einsetzen der Siebenröhrenregeneration.

Die im Freiland gezogenen Pflanzen von *Tropaeolum majus*, *Cucurbita Pepo*, *Cyclanthera explodens* und *Bryonia dioica* zeigten nach 2 Tagen bereits intensive Kallusbildung, Wundsiebröhren wurden jedoch nur bei *Cucurbita Pepo* nach 4—5 Tagen gefunden. Die anderen 3 Arten besaßen nach etwa 11 Tagen ein Meristem, das direkt hinter dem Wundkallusgewebe lag und völlig normale Siebröhren ausbildete.

Die außerordentlich schnelle Ausbildung des Meristems z. B. bei *Bryonia dioica* (etwa 8—10 Tage) entspricht in etwa der Ausbildungszeit von Wundsiebröhren bei im Freiland aufgezogenen *Impatiens Holsti*-Pflanzen, so daß man denken könnte, daß die von dem Wundmeristem sehr bald abgegebenen Siebröhren die Funktion der Wundsiebröhren

bei *Impatiens* übernehmen. Bei *Impatiens* und *Coleus* tritt das Meristem erst nach mindestens 23 Tagen in Erscheinung.

Neben den Gewächshauskulturen wurden im September *Impatiens Holsti*-Pflanzen auch im Thermostaten (27° C, 90% relative Luftfeuchtigkeit, schwaches diffuses Tageslicht) gezogen. Hierbei zeigte sich, daß bereits nach 16 Stunden Kernteilungsstadien und nach $1^1/_2$ Tagen fertige Wundsiebröhren auftraten.

Die Zeit der häufigsten Kernteilungen liegt bei *Impatiens Holsti* zwischen 23 und 7 Uhr.

Die Zeitabstände, in denen die einzelnen Phasen der Wundsiebröhrendifferenzierung aufeinanderfolgen, lassen sich nur ungenau angeben, da bei jeder Brückenbildung zu jedem Zeitpunkt Wundsiebröhren verschiedenen Entwicklungsalters nebeneinander auftreten können.

Während der Sommermonate dürften bei *Impatiens*-Gewächshauskulturen zwischen dem Einsetzen der Kernteilungen und der Ausbildung der Zellwände nur wenige Stunden verstreichen. Treten in einer Kambiumzelle durch die Regenerationstätigkeit mehrere Zellen auf, so ist deren Anlage bereits vor der Siebplattenbildung beendet. Auch die Ausbildung von Geleitzellen muß zu diesem Zeitpunkt erfolgen. Die anomale Gestalt der Geleitzellkerne ist jedenfalls bereits vor der Plattenbildung zu erkennen.

Unmittelbar im Anschluß an die eben genannten Prozesse vollzieht sich die Siebplattenbildung. Dabei ist in Übereinstimmung mit Hill (1901), wie schon erwähnt, bereits vor der Fertigstellung der Siebplatten beiderseits eine dünne Kalloseschicht zu erkennen. Sind alle Siebplatten einer Wundsiebröhre ausgebildet, so tritt eine längere Pause ein, bevor die Resorption der Zellkerne beginnt. Die Wundsiebröhre ist nun hergestellt und kann — wie unten noch näher erläutert wird — in Funktion treten. Die Kernresorption beginnt frühestens am 10. Tage nach der Verwundung, oft aber sind Kerne noch nach 6 Wochen anzutreffen, lange nachdem die Meristembildung im Kallus eingesetzt hat. Die Ausbildung des Meristems wurde am 23. Tage nach der Verwundung zum erstenmal beobachtet.

Inwieweit Licht und Luftfeuchtigkeit bei der Ausbildung von Wundsiebröhren einen Einfluß haben, wurde nicht näher untersucht.

4. Über Ort und Verlauf der Wundsiebröhren.

Wie schon gesagt, unterscheiden sich die Wundsiebröhren in den meisten Fällen deutlich von den Siebröhren, die von einem erst später in Tätigkeit tretenden Meristem gebildet werden. Die 3 schematischen Skizzen in Abb. 13 sollen den Verlauf der Meristembildung im Radialschnitt verdeutlichen. Nach der Verletzung (links) wird der Wundrand

mit Kallusgewebe verschlossen. Gleichzeitig verbreitert sich das Kambium, das normalerweise 3—5 Zellen stark ist, auf Kosten des Markparenchyms bis zu einer Dicke von 30 Zellen. Die Pfeile (mittleres Schema) weisen auf die Stellen im Kambium, wo sich noch vor der Kambiumverbreiterung die Wundsiebröhren gebildet haben, die senkrecht zur Bildebene verlaufen. Demzufolge sind auch nur in den ursprünglichen peripheren Kabiumschichten Wundsiebröhren anzutreffen. Die beiden Kambiumteile vereinigen sich später durch ein Meristem, das trogförmig den Wundkallus umschließt und nun in einem ver-

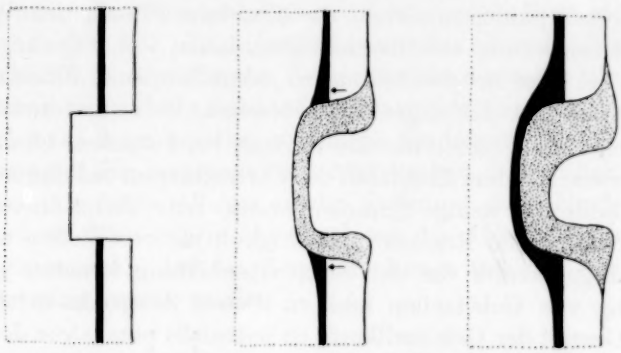


Abb. 13. Schematische Darstellung der Wundmeristembildung. Auskerbung = Wunde; schwarz = Kambium und Meristem; punktiert = Wundkallus; Pfeile = Orte der Wundsiebröhrenbildung. Radialer Längsschnitt.

breiterten Bezirk, der dem oben und unten anschließenden Bündel entspricht, an seiner Oberfläche gegen den Kallus hin regelmäßig Siebröhren abgibt (rechts). Damit ist die ursprüngliche Verbindung wieder hergestellt.

Die Entfernung der Wundsiebröhren von dem Wundrand wechselt sehr stark. Eine Gesetzmäßigkeit besteht jedoch darin, daß die ersten Wundsiebröhren eines jeden Regenerationsbezirkes immer dicht am Wundrand auftreten, d. h. sie bevorzugen die Gewebe, wo das normale Kambium in Kallusgewebe übergeht. Erst später finden sich auch Wundsiebröhren in größerem Abstand vom Wundrande. Der obere (basale) Regenerationsbezirk unterscheidet sich von dem unteren (apikalen) Pol nur in den ersten Entwicklungsstadien etwa bis zum Beginn der Kernresorption.

Die bereits von V. KAAN-ALBEST (1934) getroffenen Feststellung, daß die Wundsiebröhrenentwicklung am basalen Pol stärker und ihre Ausbildungszeit kürzer ist als am apikalen Pol, konnte wiederholt bestätigt werden. Nach einiger Zeit, noch bevor die oben besprochene Meristembildung einsetzt, haben sich die Regenerationsprodukte jedoch in Zahl und Lage ausgeglichen, so daß eine Unterscheidung nur in

bestimmten jungen Entwicklungsstadien möglich ist. Nur der Wundkallus bleibt dauernd am basalen Pol mächtiger als im apikalen Bezirk. Abb. 14 zeigt einen halbschematischen Tangentialschnitt, in dem 2 Wunden und damit 4 Regenerationsbezirke (nämlich 2 apikale und 2 basale) enthalten sind, die ein und dasselbe Leitbündel verletzten. Die basalen Kallusmassen sind erheblich größer als die apikalen; ebenso ist die Anzahl der bereits funktionstüchtigen Wundsiebröhren (dicke schwarze Linien) in den basalen Teilen größer als in den apikalen. Weiterhin scheint die Regeneration oberhalb der Wunden innen vom Mittelbündel, unterhalb der Wunden jedoch von den starken Eckbündeln auszugehen. Wenn man bedenkt, daß die Stoffwanderung in den Siebröhren oft bevorzugt in basipetaler Richtung erfolgt, so erscheinen diese Regenerationsorte nicht verwunderlich. Die naheliegende Annahme, daß ein Bildungsstoff, der in den Siebröhren wandert, bei derartigen Verletzungen an der Wundsiebröhrenbildung beteiligt ist, soll hier außer acht gelassen werden, weil den bisherigen Hypothesen (v. Kaan-Albest 1934 und Jost 1940) nichts Ergänzendes hinzuzufügen ist, und weil sich die Ausbildung der Wundsiebröhren, wie im Kapitel III/3 noch erläutert werden soll, wesentlich komplizierter zu gestalten scheint.

Die Wundsiebröhren durchqueren eigenartig unregelmäßig und oft zick-

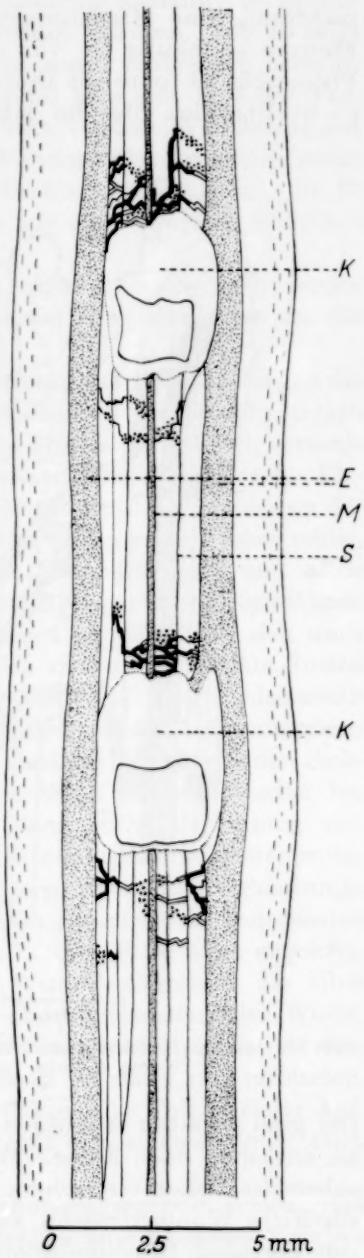


Abb. 14. Halbschematische Aufsicht auf die 4 Regenerationsbezirke eines 2mal verletzten Bündels. *K* Wundkallus, *E* Eckbündel, *M* Mittelbündel, *S* xylemloses Phloembündel. — Regenerationsprodukte: Punkte: Zonen mit Kernteilungen; dünne Linien: erste Wandbildungen; Doppellinien: Wundsiebröhren ohne Siebplatten; dicke Linien: fertige Wundsiebröhren mit Kernen.

zackförmig das Kambiumgewebe zwischen den Leitbündeln. Dabei kreuzen sie häufig die vor der Kambiumzone liegenden xylemlosen Phloembündel, ohne mit ihnen in Verbindung zu treten. Abb. 15 gibt einen Überblick über die Hälfte eines basalen Regenerationsbezirkes.

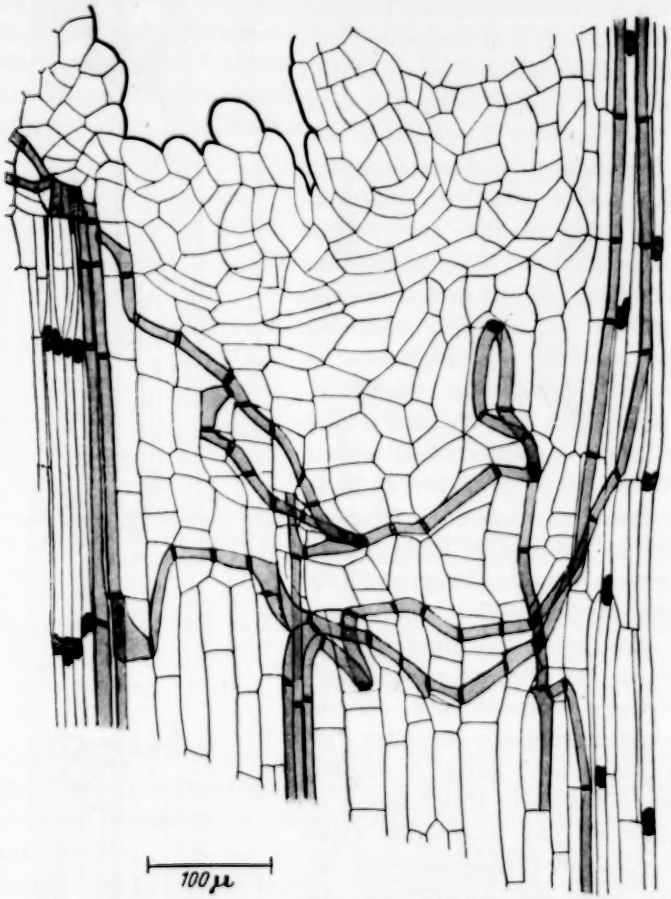


Abb. 15. Apikaler Regenerationsbezirk. Übersicht. Grau getönte Siebröhren enthalten Kerne, sind also neu gebildet. Tangentialschnitt.

Die grau getönten Siebröhren sind nach der Verwundung entstanden; sie enthalten noch Kerne. Wie die Zeichnung verdeutlicht, kommen neben den bisher besprochenen unregelmäßig quer verlaufenden, kurzgliedrigen Wundsiebröhren auch Regenerationsprodukte vor, die sich von normalen Bündelsiebröhren habituell nicht unterscheiden lassen. Da sie jedoch Kerne besitzen, dürften sie wahrscheinlich erst nach der Verwundung entstanden sein. Diese „Längssiebröhren" treten einmal im Verband der alten Leitbündel auf und sind diesen seitlich ange-

schmiegt, zum anderen können sie auch isoliert in Richtung der Sproßachse parallel zu den normalen Phloembündeln verlaufen. Abb. 16 zeigt ein solches xylemloses Phloembündel, das aus 2 Siebröhren besteht. Beide Siebröhren haben Kerne. Das Bündel kann erst nach der Verwundung entstanden sein, denn es hört weit vor dem Wundkallus auf und tritt mit einer quer verlaufenden Wundsiebröhre, die noch nicht als solche erkennbar ausgebildet ist, in Verbindung. Auch in Abb. 17 ist ein neues Siebbündel, hier jedoch nur aus einer einzelnen Siebröhre bestehend, zu sehen.

Diese Längssiebröhren spielen, wie im folgenden beschrieben werden soll, eine Vermittlerrolle beim Anschluß der Wundsiebröhren an die alten Bündelsiebröhren.

Breits CRAFTS (1934) vertrat die Annahme, daß bei Pfropfungen die „secondary sieve tubes" mit *jungen* Siebröhren in Verbindung treten und auch von v. KAAN-ALBEST (1934) wird angegeben, daß sich normale Leitbündel nach der Verwundung verbreitern, also offenbar neue Elemente ausbilden. Genauere Angaben über die Art des Anschlusses der Wundsiebröhren an die alten Phloembündel fehlen jedoch bisher völlig.

Eine Siebplattenverbindung zwischen Wundsiebröhren und alten bereits kernlos gewordenen Siebröhren müßte eine Art homoplastische Protoplasmafusion (KÜSTER 1939) darstellen. Inwieweit es sich auch bei den normalen Siebporen in allen Fällen um eine regelrechte Fusion der benachbarten Siebröhrenprotoplasten handelt, mag dahingestellt sein, zumal letzthin von VOLZ (1952) wenigstens für einige ursprüngliche Angiospermen noch eine der Schließhaut ähnliche Membran in den Siebplatten elektronenmikroskopisch wahrscheinlich gemacht worden ist. Tatsache ist, daß ich nie eine direkte plasmatische Verbindung verschieden alter bzw. verschieden weit differenzierter Siebröhrenprotoplasten miteinander beobachten konnte. Die plasmatischen Verbindungsfäden, die durch die Poren der Siebplatten hindurch die Protoplasten zweier Siebelemente verbinden, müßten in dem Falle eines unmittelbaren Einmündens der neu gebildeten Wundsiebröhren in die alten Bündelsiebröhren das Plasma einer sich eben differenzierenden Wundsiebröhre mit Kern, also das ursprüngliche Kambiumzellplasma mit dem Protoplasten einer differenzierten, kernlosen Siebröhre neu verbinden. So könnte z. B. der in Abb. 18/I und II dargestellte Fall zu dieser Auffassung führen, die offenbar, wenn auch nicht offen ausgesprochen, auch von v. KAAN-ALBEST geteilt wurde.

Die näheren anatomischen Untersuchungen ergaben jedoch, daß niemals in dieser Weise eine Wundsiebröhre an eine ältere kernlose Bündelsiebröhre durch Siebplatten angeschlossen wurde. Auch die aufnehmende Siebröhre in Abb. 18 enthält nämlich noch Kerne, ist also neu gebildet. Erst die Bilder späterer Stadien zeigen Verbindungen

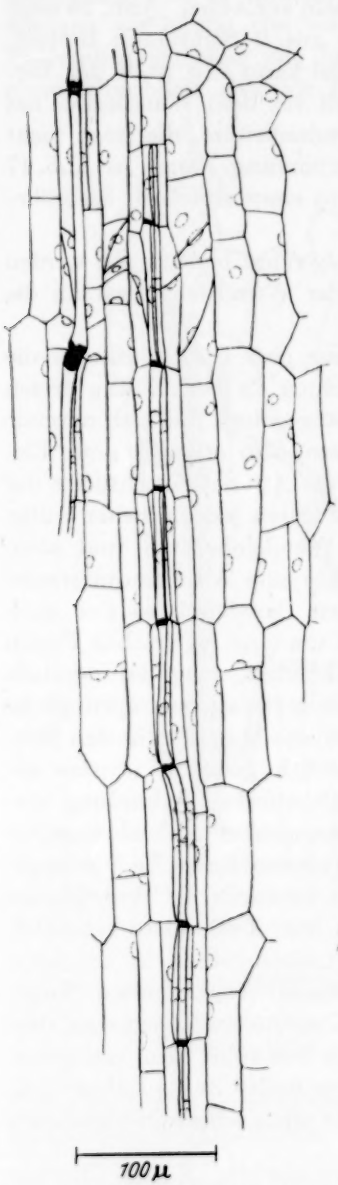


Abb. 16.

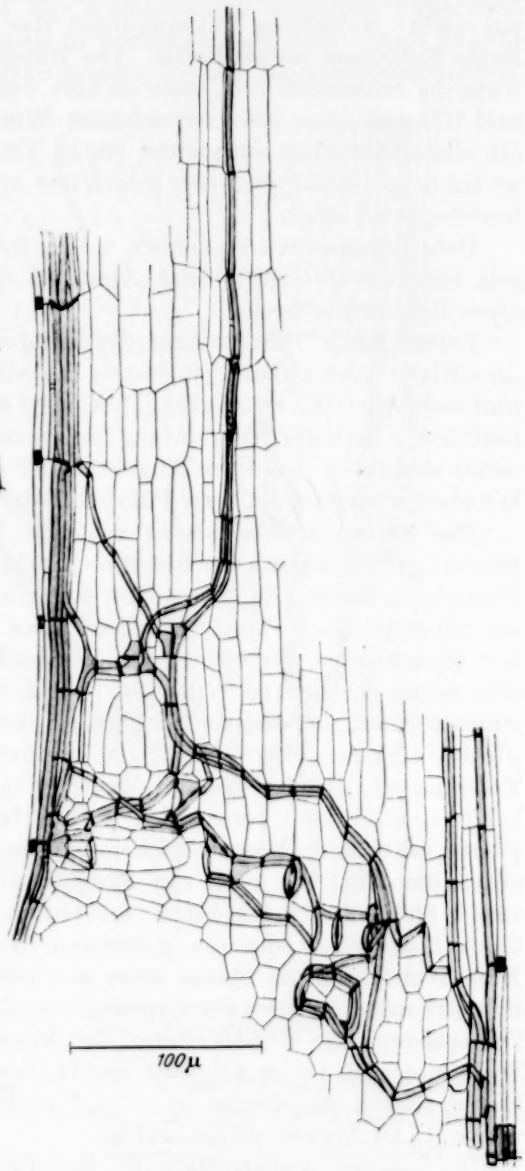


Abb. 17.

Abb. 16. Apikaler Regenerationsbezirk. Das Siebbündel endet vor dem Wundkallus (oben). Dort beginnen sich Wundsiebröhren zu bilden. Tangentialschnitt.

Abb. 17. Basaler Regenerationsbezirk. Übersicht. Rechtes Bündel verletzt. In Kallusnähe (unten) Wirbelbildungen. Graugetönte Siebröhren besitzen Kerne. Tangentialschnitt.

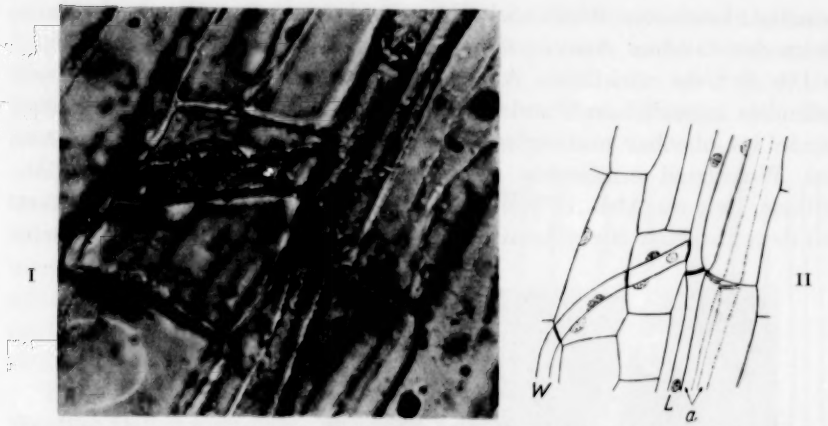


Abb. 18/I u. II. Anschluß einer Wundsiebröhre (*W* von links kommend) an eine junge Bündelsiebröhre (*L*). Direkte Siebplattenverbindung. I 1025mal. II Lageskizze zu I. *L* Junge Bündelsiebröhre mit Kernen, sog. „Längssiebröhre". *a* Alte, bereits kernlose, hinter der Bildebene liegende Bündelsiebröhren. Tangentialschnitt.

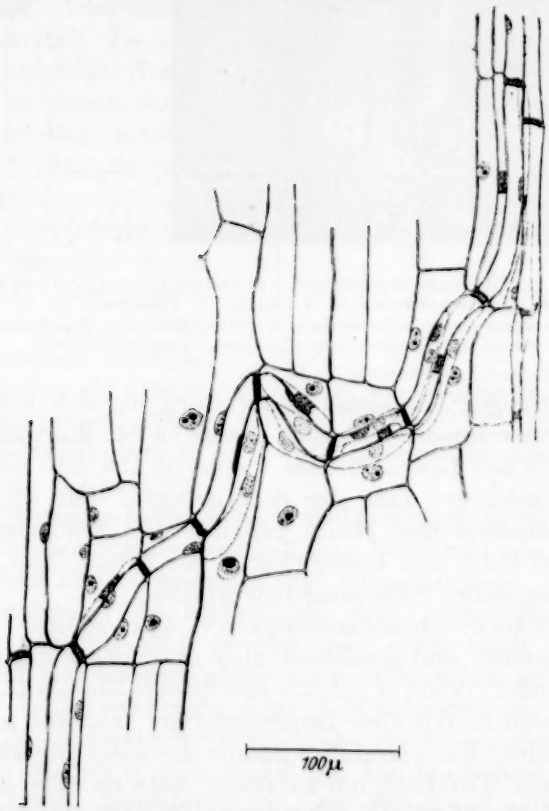
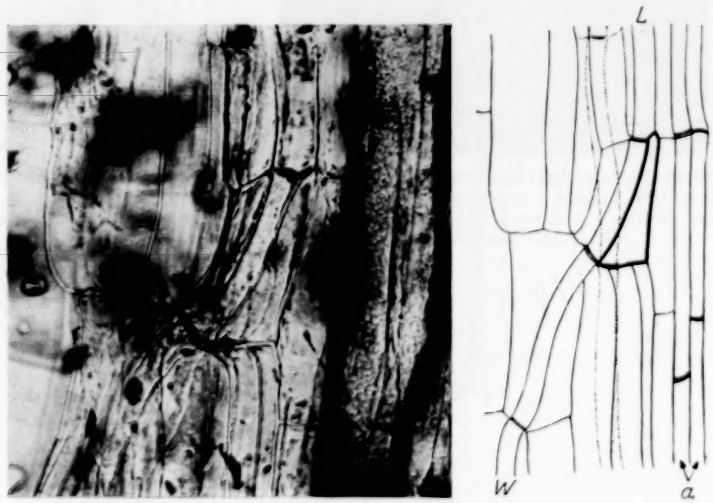


Abb. 19. Basaler Regenerationsbezirk. Eine Wundsiebröhre verbindet ein verletztes (rechts) mit einem intakten Bündel (links). Die Wunde ist rechts unten zu denken.

zwischen kernlosen Bündelsiebröhren und kernlosen Wundsiebröhren, die zu der falschen Ansicht über ihre Entstehung verleiten könnten.

Die Art des wirklichen Anschlusses zwischen quer oder längs verlaufenden eigentlichen Wundsiebröhren und den Phloemteilen der alten Bündel ist offenbar mannigfacher und recht verwickelter Art. Bei weit vom Wundrand entfernten Wundsiebröhren findet man meist Anschlüsse, wie sie Abb. 19 wiedergibt. Die zwischen dem unterbrochenen und dem intakten Siebröhrenbündel vermittelnde Wundsiebröhre setzt



I II

Abb. 20/I u. II. Anschluß einer Wundsiebröhre (*W*) an ein Leitbündel durch direkte Parallellagerung. Basaler Regenerationsbezirk. I 600mal. II Lageskizze zu I. *a* Kernlose alte Siebröhren eines rechts unten unterbrochenen Leitbündels. Die Wundsiebröhre (*W*) setzt sich in die Längssiebröhre (*L*) fort. Tangentialschnitt.

sich in kernhaltigen „Längssiebröhren" fort, die sich beiderseits den alten Leitbündeln seitlich auflagern. Dabei ist das Bindeglied zwischen Wundsiebröhre und Längssiebröhre, wie es die Abb. 20/I und II wiedergibt, vom Bündel weg nach der Seite gebogen. Der durch die Aufbiegung entstandene freie Raum zwischen dem Bindeglied und dem Leitbündel ist durch eine keilförmige, in der Skizze (Abb. 20/II) stark umrandet dargestellte Zelle ausgefüllt worden.

Die gleiche Art des Anschlusses ist von v. KAAN-ALBEST (1934, Abb. 7 links oben) gesehen und gezeichnet, aber nicht näher erkannt und beschrieben worden. Wenn es sich um eine direkte Siebplattenverbindung von Wundsiebröhre mit alter Bündelsiebröhre handelte, so müßte die seitlich abgeleitete Längssiebröhre jenseits der Anschlußstelle eine Fortsetzung bis zum Wundrand hin aufweisen, denn sie wäre ja bereits vor der Verletzung Bestandteil des betroffenen Leitbündels gewesen. Dies war bei den vorliegenden Untersuchungen niemals der Fall; die Fort-

setzung besteht selten aus gleichgeformten, Siebelementen ähnlichen Zellen. Siebplatten oder Siebplattenreste sind nicht vorhanden, Kerne dagegen stets. Die Längssiebröhre muß also erst nach der Verwundung entstanden sein und nur zu dem Zweck, die Verbindung zur Wundsiebröhre herzustellen.

Diese klare Form der Verbindung zwischen Wundsiebröhre und Leitbündel wird von weniger übersichtlichen Anschlüssen abgelöst, je näher man an den Wundrand heranrückt.

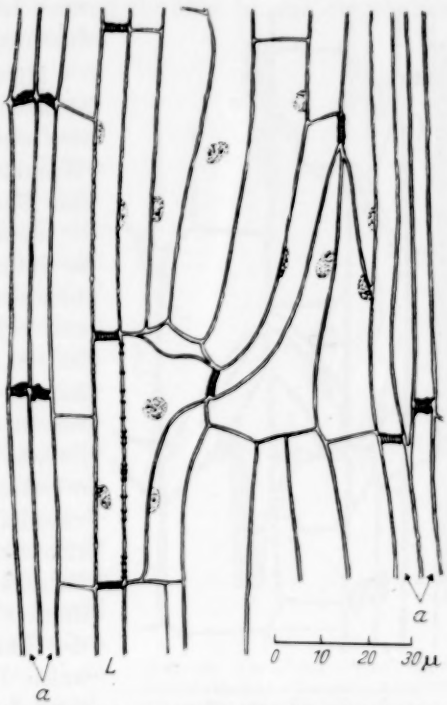


Abb. 21. Trichterförmiger Anschluß einer Wundsiebröhre an eine einzelne Siebröhre, Basaler Regenerationsbezirk, linkes Bündel (*a*) verletzt. *a* Alte, bereits kernlose Siebröhren, *L* Längssiebröhre. Tangentialschnitt.

Bei Anschlüssen, die dem Wundkallus unmittelbar benachbart sind, erweitern sich die Wundsiebröhren in ihrem letzten Glied trichterartig (Abb. 21), so daß das den Anschluß besorgende Wundsiebelement ein langes Stück der Bündelsiebröhre berührt. In dieser Berührungswand treten zahlreiche, unregelmäßig verteilte Siebfelder auf, die oft nur aus 2—3 Poren bestehen. Auch diese Bündelsiebröhren besitzen Kerne, sind also neu entstanden. Sie seien deshalb wiederum als Längssiebröhren bezeichnet. Diese enden mit einer Siebplatte in einer schmalen Parenchymzelle, ohne obliterierte Reste weiterer Siebröhrenglieder zu zeigen, wie es bei alten Bündelsiebröhren der Fall ist. Manchmal münden mehrere Wundsiebröhren hintereinander in eine Längssiebröhre.

Das verbindende Wundsiebelement weist neben der häufigsten Trichterform zuweilen auch insofern eine abweichende Gestalt auf (Abb. 22), daß die Längssiebröhre teilweise umschlungen wird. Oft vereinigt ein Wundsiebelement sogar 2 Wundsiebröhren in sich und berührt mit der gegenüberliegenden Wand die Längssiebröhre.

Auch hier handelt es sich wieder um Längssiebröhren, die Kerne besitzen und keine Fortsetzung bis zum Wundrand aufweisen. Die Verbindung zwischen Wundsiebröhre und Leitbündel wird also in jedem

Falle von einer Längssiebröhre besorgt, einem Vermittler, der genau so wie die Wundsiebröhre erst nach der Verwundung ausgebildet wird.

In gleicher Weise, wie das verletzte Siebröhrenbündel mit den Wundsiebröhren in Verbindung tritt, erfolgt der Anschluß der Wundsiebröhren auch an das intakte seitenständige Leitbündel. Auch hier treten neue Längssiebröhren auf, die die Einführung in das alte Bündel übernehmen.

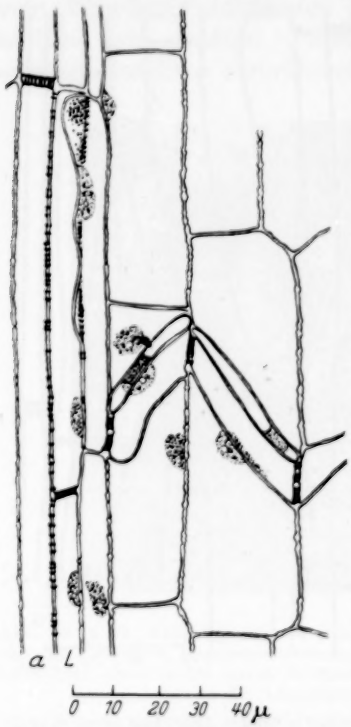


Abb. 22. Apikaler Regenerationsbezirk. Anschluß einer Wundsiebröhre an ein unterbrochenes Bündel (links). Die anschließende Zelle umgreift die Längssiebröhre, mit der sie durch Siebfelder in Verbindung tritt. *a* Kernlose Siebröhre, *L* Längssiebröhre. Tangentialschnitt.

Mit der Zwischenschaltung von Längssiebröhren ist nun aber die Frage nach der endgültigen Verbindung zwischen Wundsiebröhren und alten Siebröhren der Bündel noch nicht beantwortet.

Zunächst seien die Längssiebröhren in ihrem Verlauf in den intakten Leitbündeln weiter verfolgt: Sie verhalten sich relativ unabhängig von dem Leitbündel, dem sie sich angeschlossen haben. Mit den benachbarten Siebröhren des alten Bündels sind sie nur äußerst selten durch Siebfelder, die offenbar aus schon vorhandenen Kommunikationen zwischen den alten Siebröhren und den diesen anliegenden Nachbarzellen, aus denen die Längssiebröhre ihren Ursprung nimmt, hervorgehen, in den Längswänden verbunden. Am apikalen Pol, also unterhalb der Wunde, verlassen die Längssiebröhren meist das Leitbündel und setzen als Wundsiebröhren — ein Unterschied besteht eigentlich nur in der Orientierung zur Längsachse des Stengels — ihren Weg zum apikalen Ende des unterbrochenen Leitbündels fort. In manchen Fällen wird das intakte Leitbündel überhaupt nicht berührt, so daß es sich hier um eine Wundsiebröhre handelt, die in einem Halbkreis die Wunde umgeht und auf der anderen Seite zum verletzten Siebstrang führt oder als selbständige xylemlose Siebröhre zwischen 2 Leitbündeln ihren Weg fortsetzt. Als Beispiel möge die Skizze Abb. 23 dienen, die allerdings nicht *Impatiens*, sondern *Cucurbita* betrifft: Die Verbindung zwischen den basalen und den apikalen Wundsiebröhren wird von Längssiebröhren hergestellt, die sich nur auf einer kurzen Strecke an das intakte Bündel anlegen.

Anders liegt der Fall bei den Längssiebröhren oberhalb der Wunde. Verfolgt man, von einem Anschluß im basalen Regenerationsbezirk ausgehend, eine Längssiebröhre am verletzten Bündel in apikaler Richtung, so stellt man bei besonders günstigen Präparaten fest, daß der zum Leitbündel parallele Verlauf unverändert bis zum oberen Schnittrand des Präparates und vermutlich noch weit darüber hinaus eingehalten wird. So war in einem Falle eine Längssiebröhre bis zum 16. Siebelement, also etwa 4 mm weit, nach oben hin zu verfolgen. In allen Gliedern konnten Kerne festgestellt werden. Die untersten Zellen waren etwa $^1/_3$ kürzer als die benachbarten Bündelsiebelemente. Oberhalb des 5. Gliedes vergrößerte sich der Abstand von Platte zu Platte und mit dem 7. Glied war die normale, den Bündelsiebröhren entsprechende Siebelementlänge erreicht. Eine Siebplattenverbindung in der Längswand zu einer benachbarten alten Bündelsiebröhre trat in keinem der 16 Glieder auf, wohl aber zeigte die Resorzinblaufärbung einzelne, von Kallosepolstern verschlossene Tüpfel an, wenn die neue Längssiebröhre Wand an Wand mit einer alten Bündelsiebröhre lag. Die Anzahl dieser Tüpfel variierte in den betreffenden Zellen, auch traten geringe Unterschiede in der Größe der Kallosepolster auf. Regelrechte Siebfelder wurden nicht beobachtet.

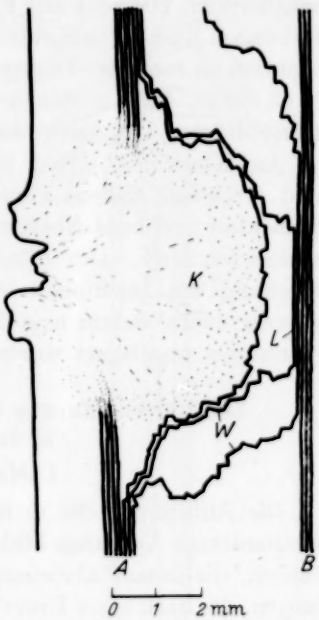


Abb. 23. *Cucurbita Pepo*. Halbschematischer Tangentialschnitt. Übersicht über die Regenerationsbezirke. *K* Wundkallus, *L* Längssiebröhren, *A* durchtrenntes Bündel, *B* intaktes Nachbarbündel.

In 23 weiteren Präparaten von *Impatiens Holsti* konnten bis zu einer maximalen Gliederzahl von 13 Zellen Längssiebröhren in apikaler Richtung verfolgt werden, ohne daß jemals Siebplatten- bzw. Siebfeldverbindungen zu bereits kernlosen Bündelsiebröhren auftraten. Demnach scheinen die vereinzelten Längswandtüpfel die einzigen Stellen zu sein, wo eine Verbindung von Längssiebröhre zu Bündelsiebröhre besteht.

Um den Grad der Differenzierung der Längssiebröhren noch in anderer Weise festzustellen, wurde mit Neutralrot lebendgefärbt. Nach Crafts (1939) speichern noch nicht „funktionstüchtige" Siebröhren Neutralrot im Zellsaft. Bei diesen Versuchen färbten sich nur Wundsiebröhren, die Kerne besaßen; alte Bündelsiebröhren nahmen keinen Farbstoff auf. Bei den Längssiebröhren konnte in einem einzigen Falle bis zum 7. Siebröhrenelement oberhalb der Anschlußstelle Farbstoff

nachgewiesen werden. Bei allen übrigen Präparaten hörte die Farbstoffspeicherung bereits beim 4. oder 5. Glied auf. Es scheinen also nur die kurzgliedrigen Elemente der Längssiebröhren noch zur Neutralrotspeicherung befähigt zu sein, bei den höher gelegenen, langgliedrigeren Zellen bleibt die Farbstoffaufnahme aus, obwohl die Zellen noch Kerne besitzen, also ebenfalls neu gebildet sein müssen. Wie die später zu schildernden Versuche mit Fluorescein zeigen, ist mit diesen Neutralrotfärbungen jedoch kaum eine Aussage über die Entwicklung der Leitungsfunktion zu machen. Dagegen sprechen die Versuche mit Kalium-Eosin S. 63 dafür, daß die den Anschluß der Wundsiebröhren vermittelnden neugebildeten Längssiebröhren im Stengel ziemlich weit hinaufreichen.

An Kontrollschnitten unverletzter Stengel von *Impatiens Holsti* und *Impatiens Sultani* konnte festgestellt werden, daß zwischen Siebelementen und benachbarten Siebparenchymzellen Tüpfelverbindungen vorhanden sind. Die Pflanze hat also die Möglichkeit, bei Unterbrechung von Leitbündeln den Umfang des Bündels nach den Seiten zu vergrößern, indem neue Siebröhren aus Siebparenchym- oder Kambiumzellen angelagert werden.

III. Untersuchungen über die Wanderung von Farbstoffen in den Wundsiebröhren.

1. Material und Methodik.

Die Aufklärung der in den vorliegenden Abschnitten geschilderten anatomischen Vorgänge bildete die Grundlage für eine Anzahl von Versuchen, die darauf abzielten, Einblicke in die Stoffbewegungen zu erlangen, die nach einer Unterbrechung der normalen Wanderbahn in den Regenerationsbezirken und in den sich hier ausbildenden neuen Wanderbahnen zu erwarten sind. Als Mittel dazu stehen leider noch immer nur die schon von SCHUMACHER (1933) verwendeten fluoreszierenden Farbstoffe, in erster Linie also das Fluorescein, zur Verfügung, da sich der Vitalnachweis zelleigener Substanzen noch immer recht unbefriedigend gestaltet.

Zu Beginn der Untersuchungen wurde zunächst unwissentlich auch mit Kalium-Eosin gearbeitet, da ein von der Farbstoff-Industrie jahrelang unter der Bezeichnung „Kalium-Fluorescein" in den Handel gebrachtes Präparat in Wirklichkeit nicht Fluorescein, sondern die giftigere Bromverbindung, das Eosin war[1]. Die mit diesem Kalium-Eosin erzielten Ergebnisse sind jedoch für unsere Frage nicht wertlos gewesen, sondern konnten später weitgehend durch die Erfahrungen mit echtem Kalium-Fluorescein bestätigt werden.

Zur Verwendung kamen die Farbstoffe Kalium-Eosin und Kalium-Fluorescein, beide von der Firma Bayer-Leverkusen, in einer Konzentra-

[1] Es besteht der Verdacht, daß diese Verwechslung auch an anderen Orten manches wissenschaftliche Ergebnis getrübt hat, da nach meinen Erfahrungen mehrere Firmen diesen falschen Farbstoff lieferten.

tion von 1:1000 (Farbstoff gelöst in 0,5%igem Agar). Der Agar lag zuvor 14 Tage zwecks Ausfaulens in Aqua dest. bei Zimmertemperatur. Der pC_H-Wert der Farblösungen mit Agar wurde für Kalium-Eosin mit 6,6, für Kalium-Fluorescein mit 7,4 gemessen.

Über die übliche fluoreszenzoptische Ausrüstung sei nur vermerkt, daß keinerlei Quarzoptik verwendet wurde, die Gefahr einer Schädigung durch kurzwelliges UV-Licht also ausgeschaltet war.

Die Fluoreszenzuntersuchungen wurden an den Balsaminaceen *Impatiens Holsti* sowie *Impatiens Sultani* und an der Labiate *Coleus hybridus* vorgenommen.

Die Wunden wurden am Pflanzenstengel so angebracht, wie es auf S. 40 beschrieben wurde, wobei besonders darauf zu achten war, daß hierbei das Blattspurbündel eines völlig unversehrten, turgeszenten Blattes verletzt wurde. An diesem Blatt wurde der Farbstoff so appliziert, daß ein mit der zähflüssigen Farbstoff-Agarlösung getränkter Wattebausch dort locker um den Blattstiel gewickelt wurde, wo der Stiel in die Blattspreite übergeht. Zuvor wurde an dieser Stelle der Blattstiel beiderseits mit einem kurzen oberflächlichen Längseinschnitt versehen, um der Farblösung das Eindringen in das Stengelgewebe zu erleichtern. Während der Sommermonate blieben die Pflanzen weiter eingetopft an ihrem Standort im Gewächshaus; während der Wintermonate wurden sie vorsichtig mit den Wurzeln aus den Töpfen gehoben, in mit Wasser gefüllte Glaszylinder gesetzt und in einem dem Tageslicht ausgesetzten Thermostaten (24° C, 80—85% relative Luftfeuchtigkeit) aufbewahrt, bis die Untersuchung begann. Es zeigte sich jedoch bald, daß die Farbstoffe in gleicher Weise wanderten, wenn die Pflanzen an der Stengelbasis abgeschnitten im Wasser des Standzylinders verblieben (Abb. 24).

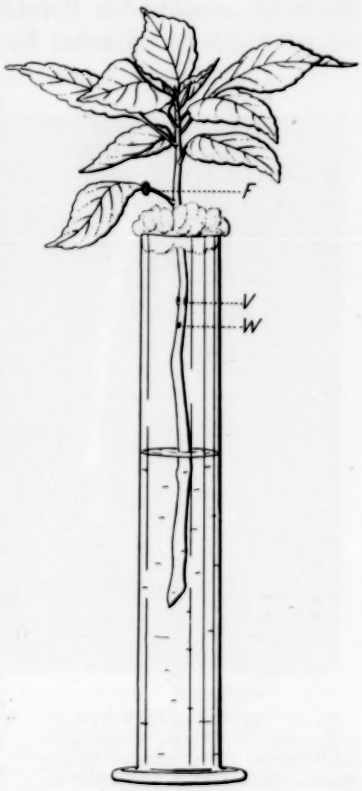


Abb. 24. Abgeschnittene Pflanze im Standzylinder. Versuchsanordnung zur Farbstoffeinleitung. *F* Farbstoffwatte um einen Blattstiel gewickelt, *V* Unterbrechungen der Eckbündel, mit Vaseline verschmiert, *W* Wunde.

Da es sich als nötig erwies, eine möglichst große Menge Farbstoff in die Siebröhren einzuleiten, wurde auch die Methode von Both (1937), den Farbstoff direkt in den Stengel einzuführen, angewandt. Dabei

wurde die Stengelepidermis 7—12 cm oberhalb der Wunde abgeschabt und dort mit Farbstoffwatte bedeckt. Ein Glasstiftchen, in den Stengel gesteckt, verhinderte ein Abrutschen der Watte (Abb. 25). Die Verwendung von Agar als Verdickungsmittel verhinderte sowohl das Herablaufen der Farbstofflösung am Stengel als auch ein zu schnelles Eintrocknen.

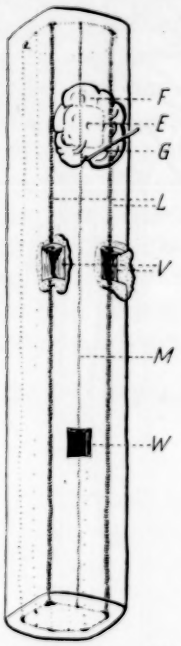


Abb. 25. Anordnung zur Farbstoffeinleitung. Verkürzt. Abgeändert nach BOTH. *F* Farbstoffgetränkte Watte, liegt auf *E* abgetragenes Oberhautgewebe des Stengels (gestrichelt umrandet). *G* Glasstiftchen, *L* Eckbündel in *V* unterbrochen und mit Vaseline verschmiert. *M* Mittelbündel führt Farbstoff und ist in *W* (Wunde) verletzt.

Eine weitere Operation sollte verhindern, daß der Farbstoff in den seitlich verlaufenden, nicht unterbrochenen Leitbündeln zur Wundregion wanderte: Kurz oberhalb der Wunde wurden die beiden Eckbündel, die Nachbarbündel des verletzten Mittelbündels, auf eine Strecke von etwa 1 mm unterbrochen. Die entstandenen Lücken wurden mit reiner Vaseline verschmiert. Mit dieser Anordnung gelang es in etwa 85% aller Fälle eine reine Mittelbündelfärbung zu erzielen (Abb. 25).

Um nun weiterhin noch die Gefäße von der Farbstoffleitung auszuschließen, wurde die Wundpartie in besonders feuchter Atmosphäre gehalten, während die Blattregion einer möglichst starken Transpiration unterzogen war. Dies ließ sich vorzüglich bei in Standzylindern aufbewahrten Pflanzen in der Weise durchführen, daß die feucht zu haltende Stengelpartie innerhalb des Gefäßes mit einem Wattepfropf gegen die Blattpartie außerhalb des Zylinders abgedichtet wurde.

Die Gefahr, daß durch das Welken der Blätter die Farbstoffwanderung in den Siebröhren beeinträchtigt würde, war nach den Ergebnissen SCHUMACHERS (1933) nicht zu befürchten. Eine derartige Beeinflussung konnte auch tatsächlich niemals bemerkt werden.

Die fluoreszenzoptische Untersuchung erfolgte an Handschnitten in Leitungswasser.

2. Die Wanderung des Kalium-Eosins in den Wundsiebröhren.

Eine Eosin-Wanderung in den Siebröhren ist bisher fluoreszenzoptisch noch nicht nachgewiesen worden. Sie wurde lediglich aus der dadurch hervorgerufenen Kallosebildung und dem Absterben der mit

Eosin in Berührung kommenden Siebröhren erschlossen (SCHUMACHER 1930). Die folgenden Untersuchungsergebnisse lassen, wenigstens für das Kalium-Eosin und die angegebenen Versuchspflanzen, eine deutliche vitale Wanderung erkennen.

Über die Aufnahme des Farbstoffes aus dem Rindenparenchym in die Siebröhren ist Hinreichendes noch nicht bekannt, sie dürfte aber bei der nahen Verwandtschaft des Eosins mit dem Fluorescein den dort gemachten Erfahrungen entsprechen.

Die Zeit vom Anbringen der Farbstoffwatte bis zum Auftauchen der ersten Farbstoffspuren in den Siebröhren über der Wunde beträgt beim Kalium-Eosin mindestens 2 Std, kann aber auch bis zu 6 Std dauern. Demzufolge wurden die Pflanzen erst 6—18 Std nach Einleiten des Farbstoffes untersucht.

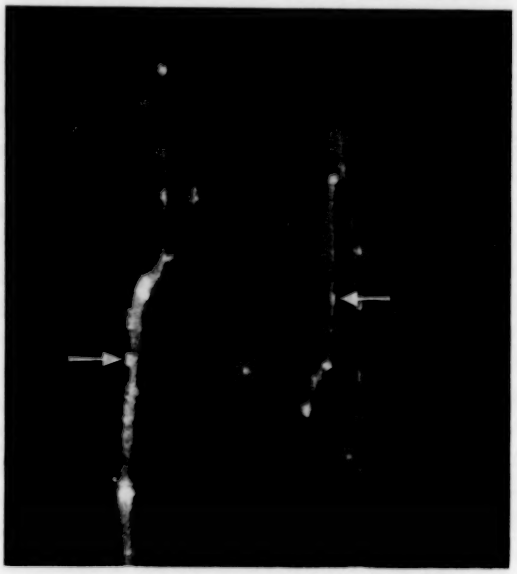


Abb. 26. Siebröhrenfluoreszenz des Kalium-Eosins. Eine Wundsiebröhre verbindet zwei junge Siebbündel. Die hellen Querscheiben entsprechen den Siebplatten. Die Pfeile deuten auf Geleitzellkerne, links: der Geleitzelle eines Längssiebröhrenelements, rechts: einer „Wundgeleitzelle" hin. (150mal.)

Die Kalium-Eosin führenden Siebröhren treten durch gelbgrüne Fluoreszenz der Protoplasten hervor. Ihre Erkennung wird noch insofern erleichtert, als auch die Kallose im Gegensatz zu ihrem Verhalten gegen Kalium-Fluorescein außerordentlich stark Kalium-Eosin zu speichern vermag, so daß die Lage der von je 2 Kallosepolstern eingeschlossenen ungefärbten Siebplatten deutlich auszumachen ist. Außer den Siebelementen selbst fluoreszieren wie beim Fluorescein stets nur noch die Protoplasten der Geleitzellen, deren Kerne besonders hell und durch ihre auf S. 44 beschriebene eckige Form identifizierbar hervortreten (vgl. Abb. 26).

Verfolgt man einen leuchtenden Siebröhrenstrang bis zum Wundrand, so ist bei genügend langer Einwirkung des Farbstoffes eine gleichmäßige Anfärbung der gesamten Siebröhre zu bemerken. 2—3 Zelllängen vor dem Wundrande hört jegliche Fluoreszenz plötzlich auf,

wobei ein mächtiges Kallosepolster den Abschluß bildet. Ein Übertritt des Farbstoffes in umliegendes Gewebe wurde nie bemerkt, ja auch dann nicht, wenn ein bereits Kalium-Eosin führendes Bündel nachträglich unterbrochen wurde. Die Verletzung muß ein sofortiges Abdichten der Siebröhre an einer Siebplatte zur Folge haben. Nach der von SCHUMACHER (1930) auch an *Impatiens* beobachteten „Eosin-Reaktion" ist diese plötzlich auftretende Kalloseproduktion durchaus erklärlich. SCHUMACHER fand große Kallosemengen immer erst in einiger Entfernung von dem Ort der Farbstoffzufuhr. Bei den vorliegenden Versuchen handelt es sich aber um geringere Farbstoffkonzentrationen, die wohl ein starkes Fluoreszenzlicht, im sichtbaren Bereich jedoch noch keine Rotfärbung erkennen lassen. Möglicherweise verursacht nur die zur Fluoreszenz schon ausreichende geringe Eosin-Konzentration die Kallosebildung.

Was den Übertritt von Kalium-Eosin in die Wundsiebröhren betrifft, so beobachtet man erst dann eine normale Fluoreszenz in ihnen und ihren „Wundgeleitzellen", wenn eine Verbindung durch voll ausgebildete Siebplatten zwischen den einzelnen Gliedern hergestellt ist. Hierbei erfolgt die Zufuhr des Farbstoffs in die Wundsiebröhre stets durch diejenige Bündelsiebröhre, die, wie im Abschnitt II/4 beschrieben, durch das Vorhandensein von Kernen ihren jugendlichen Charakter ausweist (Abb. 26). Normal leuchtende Wundsiebröhren lassen sich entsprechend den Ausführungen auf S. 46 nicht mehr total plasmolysieren, d. h. ihre Protoplasten lösen sich nicht mehr von den Platten.

Bei der Behandlung mit Kalium-Eosin konnte niemals beobachtet werden, daß sämtliche Siebröhren eines verletzten Bündels den Farbstoff aufnahmen. Sehr häufig fluoreszierten einzig die Kerne führenden Bündelsiebröhren, die sich schon durch ihre periphere Lage auszeichneten. Möglicherweise sind sie als jüngste Leitelemente besonders aktiv. Wie in den vorstehenden Abschnitten ausgeführt wurde, vermitteln sei ja den Anschluß der Wundsiebröhren an die alten Leitbündel. Doch scheint aus folgender Beobachtung hervorzugehen, daß sie zum mindesten funktionell ihre Leitfunktion noch vor den Wundsiebröhren aufnehmen: Bei Wundsiebröhren, deren Siebplatten noch nicht durchbrochen waren und deren Kalloseproduktion gerade erst begonnen hatte, ließ sich immer schon eine äußerst schwache Fluoreszenz nachweisen, die häufig erst dann bemerkt wurde, wenn die betreffende Stelle im sichtbaren Licht eingestellt und bei stärkerer Vergrößerung (etwa 450mal) zwecks Ausschaltung störenden Seitenlichtes im UV-Licht betrachtet wurde. Diese Wundsiebröhren mündeten dann in eine Bündelsiebröhre, die bereits völlig normale Fluoreszenz aufwies. Es scheint also, daß zwischen Wundsiebröhre und den leitenden Elementen im Leitbündel ein Unterschied besteht, der wahrscheinlich nur auf eine Verschiedenheit im Entwicklungsalter zurückzuführen ist. Tatsache bleibt jedenfalls

— dies wurde in 52 Fällen mit Sicherheit festgestellt —, daß Kalium-Eosin in geringer Menge bereits in sich erst differenzierenden Wundsiebröhren geleitet wird, deren Siebplatten noch keine erkennbaren Plasmastränge besitzen. Diese Elemente nehmen also in geringem Umfang ihre spätere Leitfunktion bereits zu einem Zeitpunkt auf, wo ihre Differenzierung noch keineswegs beendet ist, ein Befund, der entwicklungsphysiologisch von erheblichem Interesse sein dürfte. Darauf wird in der Besprechung noch besonders zurückzukommen sein.

Im Verlauf der Untersuchungen fiel immer wieder auf, daß die einzelnen Wundsiebelemente Intensitätsunterschiede in der gelbgrünen Fluoreszenz aufwiesen. Es traten ab und zu Glieder auf, die eine schwächere Leuchtkraft besaßen als die übrigen Zellen. Die Kontrolle im sichtbaren Licht ergab, daß diese Zellen bereits ihren Kern resorbiert hatten. Dies könnte auf eine veränderte Struktur des Protoplasten, vielleicht allerdings auch nur im Sinne einer stärkeren Empfindlichkeit gegen die Beanspruchung durch den Schnitt, hinweisen. Bei Verletzung der Siebröhren infolge schräger Schnittführung tritt nämlich bei den gleichmäßig gelbgrün leuchtenden Gliedern oft schon während der fluoreszenzoptischen Untersuchung, also nach wenigen Minuten, Fluoreszenzlöschung ein. Andererseits konnte unwesentlich verminderte Fluoreszenz noch nach 48 Std beobachtet werden. Diese Zellen waren jedoch durch das Eosin abgetötet worden, wobei das Fluoreszenzlicht einen rötlicheren Farbton angenommen hatte. In den Zellen waren große ungefärbte Vacuolen zu sehen. Bei genügend hoher Eosinkonzentration erfolgt also trotz abgestorbener Protoplasten kein Farbstoffaustritt und keine Fluoreszenzlöschung mehr. Das Fluoreszenzlicht wird lediglich zum längerwelligen Bereich hin verschoben.

Vacuolen traten auch auf, wenn die Pflanze während der Kalium-Eosin-Einleitung im hellen Tageslicht stand, dürften also zum Teil einer photodynamischen Schädigung[1] ihre Entstehung verdanken. Die durchschimmernden *Impatiens*-Stengel lassen dazu genügend Licht durch. Gegenproben bei Anfärbung im verdunkelten Raum zeigten nur selten diese Vacuolisierung.

Die beschriebenen Versuche zeigen jedoch klar, daß auch Eosin ähnlich wie Fluorescein verwendet werden kann, wenn man die stärkere Giftwirkung der Halogenverbindung genügend berücksichtigt.

3. Die Wanderung des Kalium-Fluoresceins in den Wundsiebröhren.

Immerhin schien es wichtig und wünschenswert, die vorstehenden mit Kalium-Eosin erhobenen Befunde auch mit dem ungiftigeren Kalium-Fluorescein zu kontrollieren bzw. eventuell weiterzuführen.

[1] Es muß jedoch damit gerechnet werden, daß die Siebröhrenschädigung durch Eosin, die SCHUMACHER schon 1930 beschrieben hat, besonders bei längerer Einwirkung des Farbstoffs nicht allein photodynamisch bedingt ist.

Bei diesen in den Wintermonaten durchgeführten Untersuchungen wurden alle Pflanzen in einem dem Tageslicht ausgesetzten Thermostaten bei 24° C mit Kalium-Fluorescein behandelt. Nach 2 Std Behandlungsdauer konnte der Farbstoff bereits in der Wundregion nachgewiesen werden. Er wurde also wesentlich rascher aufgenommen als das Eosin. Vacuolisierungen, Änderungen des Farbtons oder sonstige Erscheinungen, die als Schädigungen oder photodynamische Effekte zu bezeichnen wären, blieben aus. Die Fluoreszenz ergab stets einen gleichmäßigen gelbgrünen Farbton in Siebröhren und Geleitzellen. Die Kallose wurde nicht gefärbt. Zu beiden Seiten der Siebplatten war die Fluoreszenz intensiver, was auf das Leuchten von Stärkekörnchen zurückzuführen ist, die sich in Plattennähe ansammeln. Der Farbstofftransport in der unverletzten Pflanze wich also in keinem Fall von den Ergebnissen SCHUMACHERS (1933) ab, stets leuchteten nur die Siebröhren mit ihren Geleitzellen.

Anders jedoch verhielt es sich, sobald ein Leitbündel unterbrochen wurde. Im folgenden seien die einzelnen Entwicklungsstadien des Regenerationsprozesses und das Verhalten des Kalium-Fluoresceins an Hand der Schemata 1—6 in Abb. 27 besprochen: Die diesbezüglichen Versuchsreihen wurden im Monat November ausgeführt. Es ist zu erwarten, daß sich in günstigerer Jahreszeit die angegebenen Daten verkürzen.

1. Das Kalium-Fluorescein wurde zunächst in die unverletzte Pflanze eingeleitet und hatte sich nach 2 Std etwa 20 cm weit nach unten in den Stengelsiebröhren fortbewegt. Nun wurde das bereits Farbstoff führende Leitbündel in der gewohnten Weise unterbrochen, die Farbstoffzufuhr aber wurde 4 Std lang weiter fortgesetzt. Bei der dann erfolgenden Untersuchung ergab sich folgendes Bild: Der Farbstoff war im apikalen Regenerationsbezirk unter der Wunde fast nicht mehr nachzuweisen, erst in einer Entfernung von 2 cm vom unteren Wundrand machte sich wieder eine schwache Fluoreszenz der Siebröhren bemerkbar. Entweder war also der Farbstoff nach der Verletzung weiter im Stengel herabgewandert und hatte sich durch das Ausbleiben weiteren Farbstoffnachschubs in den Siebröhren stark verdünnt, oder im oberen Teil des apikalen Leitbündelendes war infolge des Wundreizes Fluoreszenzlöschung in den Siebröhren eingetreten. Im basalen Regenerationsfelde über der Wunde reichte die starke Fluoreszenz der Siebröhren bis an die letzte Siebplatte direkt vor dem Wundrand heran. Das gleiche Bild bot sich auch, wenn nach der Verwundung statt 4 Std 12 Std lang Kalium-Fluorescein geboten und darauf untersucht wurde.

2. Nun wurden Pflanzen unmittelbar vor dem Einleiten des Kalium-Fluoresceins verwundet. Der Erfolg war, daß die Fluoreszenz in den Siebröhren in etwas größerer Entfernung vom oberen Wundrand halt-

machte. Die Kontrolle im sichtbaren Licht zeigte, daß 5—7 Glieder vom oberen Wundrand aus gezählt, kein Kalium-Fluorescein enthielten, d. h., daß der Farbstoff in einer Entfernung von ungefähr 1,5 mm, also noch immer in erstaunlich geringem Abstand, vor dem oberen Wundrand haltmachte. Die der Wunde benachbarten Siebröhrenelemente hatten wohl infolge des Wundreizes die Fähigkeit Kalium-Fluorescein aufzunehmen verloren. Die Abdichtung gegen die „schockierten" Glieder

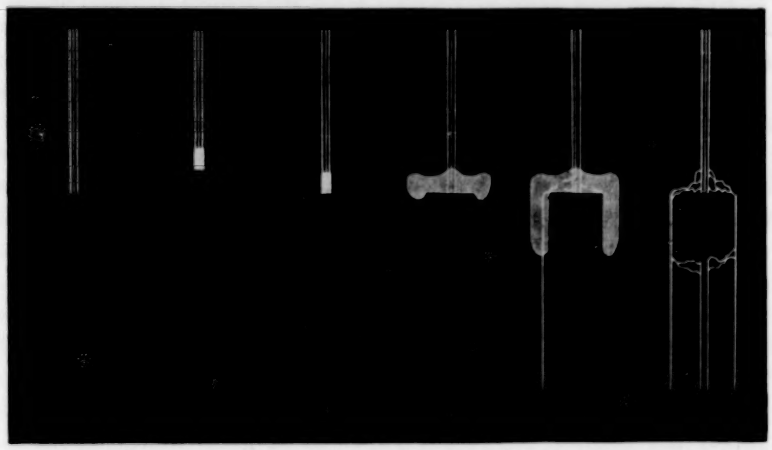


Abb. 27. Schematische Darstellung der Kalium-Fluorescein-Wanderung in zu verschiedenen Zeiten verwundeten Leitbündeln. Gesamtschnittlänge etwa 24 mm. 1. Pflanze 2 Std nach Farbstoffgabe verwundet: Fluoreszenz nur in den Siebröhren des oberen Mittelbündelteiles. Farbstoff unterhalb der Wunde befindet sich bereits weit außerhalb des Blickfeldes. 2. Pflanze unmittelbar vor Farbstoffgabe verwundet: Fluoreszenz nur im oberen Teil in größerem Abstand vom Wundrand. Neben der Siebröhrenfluoreszenz auch beginnende Siebparenchymfluoreszenz. 3. Farbstoffgabe 2 Tage nach der Verwundung: Beginn der Wundkallusbildung (hellerer Bezirk rings um die Wunde). Fluoreszenz der Siebröhren und des Siebparenchyms im oberen Regenerationsbezirk bis dicht an den Wundrand herangeschoben. 4. Farbstoffgabe 4 Tage nach der Verwundung: Fluoreszenz in Siebröhren des oberen Mittelbündels und in der Stärkescheide. Kein Übertritt in intakte Eckbündel-Siebröhren. 5. Farbstoffgabe 6 Tage nach der Verwundung: Beginn der Wundsiebröhrenbildung. Fluoreszenz der Stärkescheide umfaßt die Wunde. Erster Übertritt des Farbstoffes in die Siebröhren des linken Eckbündels. 6. Farbstoffgabe 8 Tage nach der Verwundung: Fertig ausgebildete Wundsiebröhren übernehmen die Farbstoffleitung. Keine Fluoreszenz anderer Gewebe.

übernahm wieder eine Siebplatte, deren Kallosepolster jedoch bei weitem nicht so mächtig war, wie bei den entsprechenden Versuchen mit Kalium-Eosin.

4—6 Std nach Versuchsbeginn konnte nun aber erstmalig beobachtet werden, daß Kalium-Fluorescein aus den leuchtenden Siebröhren in das angrenzende Siebparenchym übertrat. Auch das Siebparenchym begann erst in einer Entfernung von etwa 1,5 mm vom oberen Wundrand zu fluoreszieren. Die Zone der leuchtenden Siebparenchymzellen — sie sind an ihrer langgestreckten Form leicht zu erkennen — erstreckte sich vom unteren Rand über 0,8—0,9 mm nach oben; das entspricht

etwa 3—4 Siebelementlängen. Innerhalb dieser Zone zeigte sich die Fluoreszenz über die ganze Breite des Leitbündels und darüber hinaus enthielten auch noch die dem Bündel seitlich angelagerten, langgestreckten schmalen Zellen — aus denen wahrscheinlich die Längssiebröhren gebildet werden — Kalium-Fluorescein. Mit zunehmender Entfernung vom oberen Wundrand wurde die Fluoreszenz der Siebparenchymzellen in der leuchtenden Zone etwas schwächer.

3. Ein ähnliches Bild bietet sich auch bei Einleiten des Farbstoffes 1—2 Tage nach der Verwundung. Nach 2 Tagen hat sich an den Wundrändern bereits ein schmaler Kalluswulst gebildet. Die Siebröhren wie die benachbarten Siebparenchymzellen enthalten Kalium-Fluorescein, das bis dicht an das Kallusgewebe herangewandert ist. Es scheint, daß der Wundreiz abgeklungen ist, die „schockierten" Siebröhren sind wieder in der Lage, Kalium-Fluorescein bis unmittelbar zur Wunde zu leiten. Die Fluoreszenz der Siebparenchymzellen hat sich gegenüber dem vorhergehenden Versuch (2) intensiviert, so daß nach 3 Std Behandlungsdauer bereits eine stärkere Fluoreszenz des Siebparenchyms zu beobachten ist, die sich bei längerer Farbstoffbehandlung nicht vermindert. Sie unterscheidet sich von der gelbgrünen Siebröhrenfluoreszenz durch einen gelberen Farbton.

4. Läßt man 4 Tage verstreichen, bevor nach der Verwundung Kalium-Fluorescein eingeleitet wird, so kann man neben der nach wie vor gleichmäßigen Ausfärbung der zuleitenden Siebröhren folgende Beobachtung machen: Die gelbliche Fluoreszenz der Siebparenchymzellen tritt nicht mehr so stark auf, unterbleibt in einigen Fällen sogar vollständig, wie es Schema 4 wiedergibt. Dafür leuchtet jetzt die Stärkescheide, jene gerade bei *Impatiens Holsti* einwandfrei zu erkennende einschichtige Zellage, die als einzige Zellschicht des Stengels grüne, im UV-Licht rot leuchtende Plastiden enthält, in deren Mitte hellgelb leuchtende Stärkekörnchen lokalisiert sind. Diese Färbung der Stärkescheide beginnt über dem Farbstoff zuführenden Mittelbündel und breitet sich am oberen Wundrand, also über den basalen Regenerationsbezirk nach beiden Seiten hin aus, wie es Schema 4 wiedergibt. Sind die Eckbündel erreicht, so breitet sich die Färbung nach oben und unten hin noch etwas aus, so daß einerseits die Wundöffnung in einer schmalen Zone von der fluoreszierenden Stärkescheide umgeben erscheint, andererseits die Eckbündel eine kurze Strecke weit aufwärts von leuchtenden Scheidezellen bedeckt sind. Daß die Färbung vom Mittelbündel aus ihren Verlauf nimmt, läßt sich aus Zwischenstadien, die teilweise schon am 3. Tag nach der Verwundung zu beobachten sind, erkennen. Querschnitte des basalen Regenerationsbezirkes lassen erkennen, daß an dieser Färbung nur die Scheidezellen beteiligt sind, das Kambiumgewebe zeigt keine Spur des Farbstoffes. Wichtig ist, daß

sich am 4. Tage nach der Verwundung im November noch keine Wundsiebröhren nachweisen ließen; nur Kernteilungen konnten festgestellt werden.

5. Die Ausbildung der Wundsiebröhren in ihren Anfangsstadien war erst am 6. Tage nach der Verwundung zu erkennen. Wie bereits im Abschnitt II/3 über den zeitlichen Verlauf der Wundsiebröhrenbildung berichtet wurde, entwickeln sich die einzelnen Wundsiebelemente einer Brücke oft zeitlich unabhängig voneinander. Es konnte nun im Fluoreszenzbilde beobachtet werden, daß unter der immer noch leuchtenden Stärkescheide einzelne Bruchstücke der Wundsiebröhren bereits Kalium-Fluorescein enthielten mit unterschiedlicher Intensität je nach dem Grade ihrer Differenzierung. Oftmals war eine Verbindung zu leuchtenden Siebröhren des Mittelbündels noch nicht vorhanden. Offensichtlich haben diese Bruchstücke ihren Farbstoff also von den Zellen der Stärkescheide erhalten. Ja, es wurden zwei Fälle beobachtet, wo eine unterhalb der Wunde liegende Längssiebröhre bereits Fluorescein enthielt, das nur aus der Stärkescheide stammen konnte, da die Brücke noch nicht fertig war. Nur Bruchstücke der Wundsiebröhre, die aus 2—5 Elementen bestanden, führten Fluorescein. Der Farbstoff der Längssiebröhre konnte also nicht auf dem Wege über die Wundsiebröhren vom Mittelbündel bezogen worden sein.

Hat die leuchtende Längssiebröhre die Wunde umgangen, so besteht für sie die Möglichkeit, mit Wundsiebröhren des apikalen Regenerationsbezirkes in Verbindung zu treten. Dabei konnten die gleichen Beobachtungen gemacht werden, wie bei der Kalium-Eosinwanderung: Noch vor Fertigstellung der Siebplatten tritt äußerst schwache, nach Herstellung der Siebplattenverbindung völlig normale Siebröhrenfluoreszenz auf.

6. Wird 7—8 Tage nach der Verwundung Kalium-Fluorescein geboten, so ist von einem Austritt des Farbstoffs in die Stärkescheidezellen nichts mehr zu sehen. Die Wundsiebröhren haben inzwischen die Verbindung zwischen unterbrochenem und intaktem Bündel wiederhergestellt und auch der apikale Regenerationsbezirk enthält leuchtende Wundsiebröhren, die das bisher stillgelegte Leitbündelende versorgen.

Alle späteren Stadien zeigen einen normalen Fluoresceintransport, der nur mehr die Siebröhren und ihre Geleitzellen zur Fluoreszenz bringt.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß das Kalium-Fluorescein auf seiner Wanderung Hindernisse so zu überwinden vermag, daß es aus den unterbrochenen Siebröhren in die Siebparenchymzellen und schließlich in die Stärkescheidezellen übertritt. Dort breitet es sich um das Hindernis herum aus, tritt aber nicht in Siebröhren eines intakten Bündels zurück. Eine Wiederaufnahme des Farbstoffes aus der Stärkescheide in normale Leitungsbahnen erfolgt nur bei ganz jungen, sich

gerade bildenden Siebröhren, eben den Wundsiebröhren, in denen dann die Wanderung fortgesetzt werden kann.

Behandelt man ein Präparat 3 oder 4 Tage nach der Verwundung mit Jod, so beobachtet man in der Stärkescheide des basalen Regenerationsbezirkes große Stärkekörner, während im apikalen Bezirk kaum noch Stärke nachgewiesen werden kann. Die Unterbrechung des Bündels hat also eine Stauung der Assimilate verursacht, die sich nun, soweit es sich um Zucker handelt, in Stärke umgewandelt haben. Wie so oft verhält sich also anscheinend auch hier Fluorescein ähnlich wie die wandernden Kohlenhydrate.

Im Vergleich zum Kalium-Eosin wandert das Kalium-Fluorescein wesentlich besser in den Phloemelementen, so daß es — wenn auch in beschränktem Maße — geradezu zur Indikation der Stoffleitung herangezogen werden kann. Weniger der geringfügige Unterschied im Molekülbau als die Giftigkeit des Eosins dürften einen Übertritt aus den Siebröhren in das Parenchymgewebe — sei es das Siebparenchym oder die Stärkescheide — verhindern. Dabei spielt die von SCHUMACHER (1930) beschriebene, die Kallosebildung anregende, Wirkung des Eosins sicher lich eine nicht unbeträchtliche Rolle. Ebenso könnte die wesentlich langsamere Ausbreitung des Eosins in den Siebröhren auf eine vermehrte Kalloseproduktion und die damit verbundene Verengung der Siebporen zurückgeführt werden. Bei der Fluoresceinwanderung konnte niemals eine derartige Kallose-Neubildung beobachtet werden.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Aus den vorstehenden Beobachtungen und Versuchen ergibt sich nun für die Frage der Wundsiebröhrenbildung folgendes Bild: Die Durchtrennung eines Leitbündels muß sowohl für die im Leitbündel gelegenen Elemente selbst wie für das ganze umliegende Gewebe, das notwendig mit ihm in einem stetigen Stoffaustausch steht, bestimmte Folgen haben. Stauungen oberhalb der Wunde, Verarmungen unterhalb der Wunde oder umgekehrt — da der Transport sowohl im Gefäßteil wie im Siebteil in beiden Richtungen erfolgen kann — müssen Verschiebungen in dem normalen Konzentrationsgefälle hervorrufen. Wenn auch Beobachtungen in dieser Richtung bis jetzt kaum vorliegen, so haben doch die Untersuchungen über das Verhalten des Fluoresceins diese theoretischen Annahmen gut bestätigt. Tatsächlich wurde ein Austritt des Farbstoffes oberhalb der Wunde gesehen. Überraschend und nicht ohne weiteres vorauszusehen war dabei jedoch der zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der Verwundung einsetzende weitere Übertritt des Farbstoffes in die vor dem kambinalen Ring liegende Stärkescheide oberhalb der Wunde und seine seitliche Ausbreitung bis zu den unverletzten Eckbündeln. Man hat hier unmittelbar den Eindruck, als würde in dieser

Stärkescheide bereits eine Brücke zu den Bündeln geschlagen, die zwar sicher eine Notbrücke darstellt, von der aus aber in der dahinter anschließenden prokambinalen Schicht die eigentliche Regeneration und Differenzierung der Wundsiebröhren induziert oder doch irgendwie beeinflußt werden kann. Denn die Beobachtung, daß einzelne sich hier ausgestaltende und in der Entwicklung vorauseilende Glieder der späteren Wundsiebröhrenbrücke über diese Stärkescheide sekundär mit Farbstoff versorgt werden können, deutet doch auf einen solchen Stoffrücktritt aus der Stärkescheide in die prokambiale Regenerationsschicht. Aber auch die weitere Beobachtung, daß dieser Farbstoffaustritt in die Stärkescheide, der ein ziemlich großes Feld oberhalb und beiderseits der Wunde überflutet, sofort aufhört, sobald die Brücke der Wundsiebröhren zwischen den getrennten Leitbündelenden wieder hergestellt ist, bedeutet eine gewisse Überraschung.

Die nähere Deutung und Identifizierung dieser Farbstoffexperimente mit den vermuteten zelleigenen Stoffbewegungen ist natürlich wie immer schwierig und kann nur mit der notwendigen kritischen Zurückhaltung vorgenommen werden. Solange es nicht glückt, den Weg der zelleigenen Substanzen auf andere Weise darzustellen, bieten diese Versuchsergebnisse aber doch manche interessanten Anhaltspunkte. Sicher handelt es sich bei diesen Regenerationen der Leitbahnen ja um sehr komplexe Dinge, und sicher sind es nicht einfach die aus den durchtrennten Leitbündeln austretenden „Assimilate", deren Anhäufung eine parenchymatische Prokambiumzelle veranlaßt, sich in eine hochspezialisierte Siebzelle umzuwandeln und mit ihren Nachbarzellen zu einer geschlossenen Leitbahn zusammenzutreten. Der ursprüngliche Gedanke, mit Hilfe des in die Leitbahnen hineingebrachten Fluoresceins vielleicht die vermuteten Induktionswege darstellen zu können, hat sich in dieser Form nicht realisieren lassen, da der durch die Farbstoffe angezeigte Stofftransport nur ein breites Feld markiert, das zudem über der die Regenerate bildenden Schicht liegt. Immerhin scheint dieser deutlich als Wundfolge charakterisierte Farbstoffaustritt anzuzeigen, daß starke Veränderungen in unmittelbarer Nähe der Regenerationsstellen vor sich gehen. Auch ist die in gleicher Weise bei anderen Regenerationen schon gemachte Beobachtung von Wichtigkeit, daß die Wundsiebröhrenbrücken ziemlich unregelmäßig im Zickzack und keineswegs in unmittelbarem Anschluß an die Wundstelle von dieser aus vorgebaut werden, so daß sich die einzelnen Glieder, die sich später zu einer Brücke zusammenschließen, relativ unabhängig voneinander auszugestalten beginnen. Dies scheint darauf hinzudeuten, daß die Induktion für die Neubildung einer Leitbahn nicht so sehr „longitudinal" von der Wundstelle aus ausstrahlt, sondern mehr in einem „Feld" erfolgt, das durchaus dem von der leuchtenden Stärkescheideschicht beherrschten entsprechen

könnte. Natürlich werden trotzdem auch von der Wunde her ausgeübte „longitudinale" Einflüsse, also etwa direkte Stoffstauungen oder die vielleicht ähnlich wirkenden Stoffverarmungen, von Einfluß sein. Darauf könnte vielleicht die bereits von v. KAAN-ALBEST gemachte und von mir erneut bestätigte Beobachtung deuten (s. Abb. 18, S. 55), daß die Wundsiebröhren oberhalb der Wunde rascher und zahlreicher gebildet werden als unterhalb. Man könnte hier an einen Transport von Wuchsstoff in den Leitbündeln denken u. a. m. Auch darf die Beobachtung der relativ selbständigen Differenzierung der einzelnen Siebzellen nicht so gedeutet werden, als ob jede Beziehung der sich bildenden Regenerate zu den durchschnittenen Leitbündeln fehlte. Gerade das Studium der Anschlußverhältnisse der neu gebildeten Brücke an die alten Leitbündel hat ja gezeigt, daß in diesen Leitbündelenden auf ziemlich weiten Strecken neue, dem alten Bündel parallel angelagerte Siebröhrenelemente gebildet werden, die dann den Stoffübertritt aus den alten Bündeln in die eigentliche Wundbrücke vermitteln. Und hier scheint besonders eine vielfach mit Eosin, aber auch mit Fluorescein gemachte Beobachtung interessant: der frühe Zeitpunkt des Einsetzens der Leitfunktion dieser neu gebildeten Wundelemente. Er liegt eindeutig *vor* Fertigstellung der bekannten charakteristischen Differenzierungen einer voll ausgebildeten Siebröhre. Dies aber ist nicht nur für die oft diskutierte spezielle Frage, von wann ab die aus einem normalen Bündelkambium herausdifferenzierten Siebröhren leitend werden, von Bedeutung. Die von mir untersuchten Wundsiebröhren leiten Fluorescein völlig normal, sobald ihre Platten erkennbar ausgebildet sind, unabhängig davon, ob ein Kern vorhanden ist oder nicht. Sie leiten aber ganz schwach bereits, wenn die Siebplatten noch keineswegs fertiggestellt und das junge Wundelement daher anatomisch noch gar nicht als Siebröhre erkennbar ist. Dies heißt aber nichts anderes, als daß in dem Wechselspiel zwischen Funktion und Gestalt, bei dem man häufig geneigt sein möchte, das gestaltbildende Moment allzusehr in den Vordergrund zu stellen, der Funktion doch schon sehr frühzeitig eine Rolle zugesprochen werden muß. Zwar hat es sich, wie gesagt, nicht nachweisen lassen, daß an den Stellen, die später Wundsiebröhren bilden, primär Fluoresceinströme geleitet werden, die etwa als Modell für eine Induktion der Wundsiebröhrenbildung auf diesem Wege angesehen werden könnten. Das Fehlschlagen dieses Experiments bedeutet aber noch keineswegs, daß eine solche Möglichkeit nicht existiert, da für das Ausbleiben einer körperfremden Farbstoffwanderung viele andere Gründe maßgebend sein könnten. Die Beobachtungen über das Verhalten des Farbstoffes deuten jedoch mehr darauf hin, daß die erste Induktion der Zellteilungen für die spätere Brückenbildung nicht auf diesem Wege erfolgt. Dennoch wird sehr viel früher, als man das je vermutete, diese Bahn bereits exklusiv

für schwache Farbstoffströme leitend, und es ist sicher sehr eindrucksvoll, zu sehen, wie schrittweise die endliche Ausgestaltung einer Siebplatte, also des eigentlichen Charakteristikums einer Siebröhre, die volle Funktion erlaubt. Die Farbstoffversuche dürfen daher in dieser Beziehung als ein erster Vorstoß in ein entwicklungsphysiologisch bis jetzt kaum zugängliches Gebiet gewertet werden.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Verbindung künstlich unterbrochener Leitbündel bei *Impatiens Holsti* und einigen anderen Pflanzen durch Wundsiebröhren erfolgt unter günstigen Bedingungen innerhalb weniger Tage. Sie verläuft so, daß äußerlich wie Parenchymzellen aussehende Elemente des prokambialen Ringes sich wieder teilen, schmale Zellzüge abschnüren und hauptsächlich an ihren Radialwänden, offenbar unter Benutzung dort vorhandener Tüpfel, Siebplatten ausbilden. Der Anschluß dieser Brücken an die Siebröhren der alten Bündel erfolgt jedoch nicht unmittelbar, was Plasmafusion mit dem alten Siebröhrenplasma voraussetzen würde, sondern durch neue, sich im alten Bündel herausdifferenzierende und diesem seitlich sich anlagernde Siebröhren, die auf eine lange Strecke hin durch gewöhnliche Tüpfel die Verbindung mit dem alten Phloem ermöglichen.

Durch Verwendung von Kalium-Fluorescein und Kalium-Eosin wurde versucht, Einblick in die Leitungsverhältnisse im Regenerationsbezirk und in den sich ausdifferenzierenden neuen Leitbahnen zu erhalten. Es wurde beobachtet, daß das Fluorescein einige Zeit nach der Unterbrechung eines Leitbündels aus den Siebröhren zunächst in das umgebende Siebparenchym austritt, später aber seinen Weg in die vor dem prokambialen Ring liegende Stärkescheide nimmt und hier seitlichen Anschluß an die verletzten Nachbarbündel gewinnt. Zu diesem Zeitpunkt beginnen in der unmittelbar dahinterliegenden prokambialen Schicht die ersten Kernteilungen und Differenzierungen einzelner Siebzellen, die noch ohne direkten Konnex mit den verletzten Bündelenden erfolgen. Sie erhalten teilweise aus der Stärkescheide Farbstoff geliefert. Sobald der Anschluß der neuen Wundsiebröhren an das verletzte Bündel erreicht ist, wandert der Farbstoff von dort her in die junge, noch unausdifferenzierte Leitbahn ein, d. h., diese zeigt bereits eine gewisse Leitfunktion zu einer Zeit, wo zum mindesten die Differenzierung der Siebplatten noch nicht erfolgt ist. Mit dem Durchbruch der Siebplatten werden dann die Wundsiebröhren, obwohl ihre Kerne noch längere Zeit ganz erhalten bleiben, voll funktionstüchtig. Gleichzeitig hört der Übertritt des Farbstoffes in die Stärkescheide auf, die organische Verbindung der durchtrennten Leitbündel ist wieder hergestellt, und der aus der Beobachtung des Farbstoffes erschlossene Stoffverkehr verläuft wieder normal.

Literatur.

BOTH, M. P.: Stoffwanderung in einfachen Systemen. Rec. Trav. bot. néerl. **34**, 1 (1937). — CRAFTS, A. S.: Phloem anatomy in two species of *Nicotiana*, with notes on the interspecific graft union. Bot. Gaz. **95**, 592 (1934). — The relation between structure and function of the phloem. Amer. J. Bot. **26**, 172 (1939). — ESAU, K.: Phloem structure in the grapevine and its seasonal changes. Hilgardia **18**, 217 (1948). — HILL, A. W.: The histology of the sieve tubes of *Pinus*. Ann. of Bot. **15**, 575 (1901). — JOST, L.: Zur Physiologie der Gefäßbildung. Z. Bot. **35**, 114 (1940). — KAAN-ALBEST, A. v.: Anatomische und physiologische Untersuchungen über die Entstehung von Siebröhrenverbindungen. Z. Bot. **27**, 1 (1934). — KOSTYTSCHEW, S.: Der Bau und das Dickenwachstum der Dikotylenstämme. Beih. bot. Cbl. **40**, 1 (1924). — KÜSTER, E.: Über Plasmapfropfungen. Jena 1939. — MEYER, A.: Über die Methoden zur Nachweisung der Plasmaverbindungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **15**, 666 (1897). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — SCHNEIDER, H., u. A. ZIMMERMANN: Die Botanische Mikrotechnik. Jena 1922. — SCHUMACHER, W.: Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **73**, 770 (1930). — Untersuchungen über die Wanderung des Fluoresceins in den Siebröhren. Jb. wiss. Bot. **77**, 685 (1933). — STRAUB, J.: Einfache Methode zur Darstellung der Kernteilung. Z. math. u. naturwiss. Unterricht **68**, 271 (1937). — VOLZ, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Porengröße pflanzlicher Zellwände. Mikroskopie (Wien) **7**, 251 (1952).

Dr. W. ESCHRICH, Bonn a. Rh., Pharmakognostisches Institut, Meckenheimer Allee/Nußallee.

Planta, Bd. 43, S. 75—82 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Wien.

ABHÄNGIGKEIT DER MEMBRANBILDUNG VON DER ZELLTEILUNG BEI DIATOMEEN UND DIFFERENTIELLE TEILUNGEN IM ZUSAMMENHANG MIT DER BILDUNG DER INNENSCHALEN.

Von

LOTHAR GEITLER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Juli 1953.)

Bekanntlich ist die vegetative Zellteilung der Diatomeen mit Membranbildung verbunden und zwar in der Weise, daß die beiden Tochterprotoplasten an den einander zugekehrten Seiten neue, verkieselnde Schalen bilden. Die Voraussetzung für die Schalenbildung ist die Teilung des Mutterprotoplasten in zwei Tochterprotoplasten; der Plasmateilung geht unmittelbar eine Mitose voraus und dieser geht wieder voran eine Vergrößerung des Protoplasten. Die zeitliche Aufeinanderfolge ist also diese: Auseinanderschieben der Gürtel in pervalvarer Richtung, Ablauf der Mitose, Cytokinese, Schalenbildung. Ob und wieweit diese Einzelabläufe notwendig kausal miteinander verknüpft sind, läßt sich zunächst nicht sagen. Wie die Gametenbildung zeigt, ist jedenfalls die Plasmateilung nicht notwendig mit Schalenbildung verbunden.

Bildung von Kieselschalen erfolgt außer bei der vegetativen Zellteilung noch an zwei Stellen der Entwicklung: 1. Bei der Entstehung der Erstlingszelle aus der Auxospore; dies gilt für alle Diatomeen; 2. bei der Bildung von Innenschalen (Valvae internae), die eine Eigentümlichkeit bestimmter Arten ist. Bisher wurde allgemein angenommen, daß in diesen Fällen die Schalen losgelöst von allen Formwechselvorgängen des Protoplasten entstehen, die er bei der Schalenbildung im Zuge der vegetativen Teilung durchmacht. Wie jüngst gezeigt wurde, trifft dies für die Bildung der beiden Schalen der Erstlingszelle nicht zu; es laufen vielmehr im Protoplasten der Auxospore 2 metagame Mitosen ab, deren jede einen überlebenden und einen pyknotisch abortierenden Kern liefert, ohne daß eine Cytokinese folgt; die erste dieser Mitosen findet vor der Bildung der 1. Schale, die zweite vor der Bildung der 2. Schale statt (GEITLER 1953). Dies bedeutet, daß Schalen nicht unvermittelt an einem ruhenden Protoplasten gebildet werden, sondern daß ihre Bildung grundsätzlich an Zellteilungsvorgänge — wenn auch entsprechend modifizierte — gebunden ist: von beiden Zellteilungen, die zur Bildung der beiden Schalen „gehören", sind allerdings nur die Mitosen übriggeblieben.

Auf Grund dieser Ergebnisse war das Verhalten bei der Bildung von *Innenschalen* zu überprüfen. Nach den bisherigen Untersuchungen wird der Vorgang so geschildert, daß der Protoplast einer vegetativen Zelle ohne weiteres innerhalb der vorhandenen Schale neue Schalen bildet, die den alten innen mehr oder weniger anliegen und etwas abweichend strukturiert sind. Dabei entstehen entweder nur zwei neue Schalen, wie bei der lange bekannten *Eunotia „Soleirolii"* — auf die sich auch die folgenden Untersuchungen beziehen —, oder der Vorgang wiederholt sich, so daß eine größere Zahl von Innenschalen ineinandergeschachtelt wird[1].

Die ökologische Bedeutung der Erscheinung wurde oft diskutiert, ohne daß sich zur Zeit ein sicheres Urteil fällen läßt. Sicher ist allein, daß die Fähigkeit zur Bildung von Innenschalen nur manche Diatomeen besitzen und daß unter ihnen viele Arten Innenschalen sehr häufig hervorbringen; d.h. diese Arten reagieren auf entsprechende Milieubeschaffenheit, z.B. hohe Salzkonzentration des Mediums (CHOLNOKY) mit Innenschalenbildung. Ob man von Dauerzellen (Zysten) sprechen kann (PFITZER u. a.), erscheint wohl noch fraglich. Ganz allgemein handelt es sich um einen Depressionszustand (GEITLER 1927), was sich schon daraus ergibt, daß die vegetativen Teilungen eingestellt werden. Auch die entwicklungsgeschichtliche Untersuchung vermag diese Auffassung zu stützen, denn sie ergibt, daß die Innenschalen unter unvollständigen Zellteilungen entstehen.

Zur Untersuchung gelangte die in dieser Hinsicht klassische *Eunotia „Soleirolii"* KÜTZ., die nach HUSTEDT in den Formenkreis von *Eunotia pectinalis* gehört. Das Material wurde anläßlich einer Exkursion gesammelt, nur flüchtig im Leben untersucht und bloß in 50%igem Alkohol fixiert, so daß eine erschöpfende Analyse der feineren Veränderungen im Protoplasten unterbleiben mußte. Die eingehende Untersuchung der fixierten Proben erfolgte teils in Essigkarmin, teils an Essigkarmin-Euparal-Präparaten. Die im Leben reichlich vorhandenen Öltropfen werden durch die Behandlung mit 96%igem Alkohol herausgelöst. Gestalt und Lage der Chromatophoren sind nur unvollkommen erkennbar.

Innenschalen bilden Zellen aller Größen; im vorliegenden Material betragen die Längen der Apikalachsen 25—60 μ. Das Aussehen entspricht im wesentlichen den bekannten Beschreibungen und Abbildungen (HUSTEDT 1930a, Abb. 5a)[2].

[1] Vgl. HUSTEDT 1930a, b; ausführliche ältere Literaturangaben bei PFITZER; letzte Untersuchung von CHOLNOKY.

[2] Doch sei nebenbei erwähnt, daß die erste Innenschale ein Gürtelband oder ein ähnliches Membranstück ausbildet; es wurde anscheinend bisher übersehen.

Die beiden Innenschalen einer Mutterzelle entstehen *nacheinander*, und zwar die erste *ausnahmslos* in der *Epi*theka, d.h. der übergreifenden, älteren Membranhälfte der Mutterzelle (Abb. 1). Nach ihrer Fertigstellung stellt die erste Innenschale die Hypotheka der neuen Zelle vor, d.h. die Hypotheka der Mutterzelle wird in bezug auf sie zur Epitheka. Die 2. Innenschale, die der ersten gegenüber angelegt wird, entsteht somit wieder innerhalb der Epitheka. Dem gesetzmäßigen Verhalten liegt die gleiche Differenzierung des Protoplasten in pervalvarer Richtung zugrunde, die sich in analoger Weise bei der Gametenbildung zeigt (vgl.

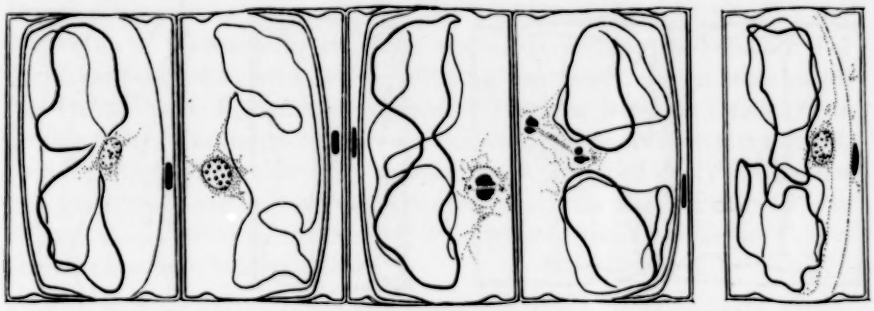


Abb. 1a u. b. *Eunotia pectinalis („Soleirolii")*. a Ausschnitt aus einer Bandkolonie mit 2 Paaren von Tochterzellen; von rechts nach links: Anaphase und Metaphase vor der Bildung der 2. Innenschale, Prophase vor der Bildung der 2. Innenschale, späte Telophase mit 2. Innenschale. b Zelle desselben Bandes mit jüngster Anlage der 1. Innenschale; zwischen ihr und dem Protoplasten ein Schrumpfungsraum. — 50%iger Alkohol, Essigkarmin, Euparal; Plasma in den überlebenden Zellen nur zum Teil wiedergegeben.

weiter unten). Die Folge ist, daß in zusammengehörigen Tochterzellen im Fadenverband die gleichnamigen Innenschalen spiegelbildlich liegen (Abb. 1).

Die Bildung der ersten wie der zweiten Innenschale ist mit einer *Mitose* und *Zellteilung* verbunden, die extrem inäqual verläuft. Vorangeht dieser Teilung eine Verlagerung der beiden Chromatophorenplatten in Richtung der Hypotheka (Abb. 2a). Die beiden Platten, die in der vegetativen Zelle schalenständig sind bzw. dem ventralen Gürtelband anliegen (Abb. 2b — vgl. die eingehende Schilderung für *Eunotia arcus*, GEITLER 1951a) —, rücken dabei an die gegenüberliegenden Gürtelseiten; in Abb. 2a liegen die beiden Chromatophoren jeder Zelle in Deckung übereinander, es ist daher nur je ein Chromatophor dargestellt. Jede Platte kann auch quer zerfallen, so daß 4 Halbchromatophoren entstehen (Antizipation der Teilung; vgl. GEITLER 1951a). Außerdem können Faltungen erfolgen. Das Bild wird, hauptsächlich infolge der für diese Zwecke unzureichenden Fixierung, die auch Verklebungen der Chromatophoren hervorruft, meist nicht mehr eindeutig optisch auflösbar (dementsprechend ist die zeichnerische Darstellung

gehalten). Sicher ist, daß sich die Chromatophoren entgegen dem Verhalten bei der vegetativen Teilung, während der sie symmetrisch und schalenständig angeordnet bleiben, gegen die Hypotheka zu verlagern und daß der Kern — wieder entgegen dem Verhalten bei der vegetativen Teilung — aus seiner zentralen Lage herausverlagert und gegen die Epitheka zu verschoben wird (Abb. 1, zweite Zelle von links). Die Spindel, deren Längsachse wie bei allen Mitosen und auch bei der I. meiotischen Teilung mehr oder weniger pervalvar steht, kommt daher

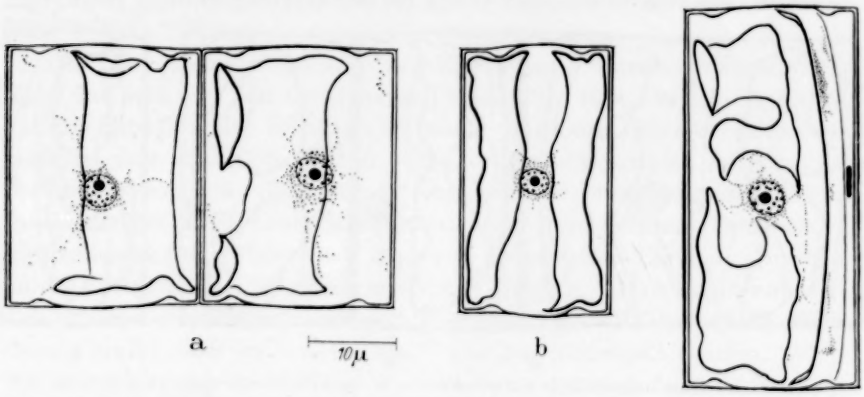


Abb. 2a—c. *Eunotia pectinalis* (*„Solcirolii"*). a Tochterzellen unmittelbar vor der Bildung der 1. Innenschale: Verlagerung der Chromatophoren gegen die Hypotheken (von den beiden in Deckung liegenden Chromatophoren jeder Zelle ist nur einer dargestellt). b Erwachsene vegetative Zelle der gleichen Bandkolonie mit Normallage der Chromatophoren (diese leicht geschrumpft). c Abnorme Bildung von 2 „ersten" Innenschalen nach einer einzigen Mitose; zwischen den beiden Innenschalen Plasmareste. — 50%iger Alkohol, Essigkarmin, Euparal; Plasma in den überlebenden Zellen nur zum Teil wiedergegeben.

der Epitheka genähert zur Ausbildung und die Mitose ergibt 2 Tochterkerne, die in ganz verschiedenem Milieu entstehen und sich infolgedessen weiterhin ganz verschieden verhalten: der eine — zur Hypotheka gehörige — gelangt in einen normalen, großen, vollständigen Protoplasten mit Chromatophoren zur Bildung, der andere in einem praktisch plasmaleeren, fast nur aus Zellsaft bestehendem Zellraum (Abb. 1, rechts). Dieser der Epitheka anliegende Kern wird pyknotisch und wird zwischen Epitheka und erster Innenschale, bzw. zwischen der ursprünglichen Hypotheka und der zweiten Innenschale flachgedrückt (Abb. 1). Er bleibt daselbst noch eine Zeitlang sichtbar; sonstige Inhaltsbestandteile der „Kleinzelle" sind normalerweise nicht erkennbar. Schließlich ist der Raum zwischen Innenschale und Mutterschale überhaupt leer.

Der Bildung jeder Innenschale geht also eine Mitose voraus, die mit einer extrem inäqual verlaufenden Cytokinese verbunden ist. Dieser Ablauf wiederum ist die Folge einer Differenzierung oder Schichtung des

Protoplasten in pervalvarer Richtung, die sich in Verlagerung der Chromatophoren samt Plasma gegen die Hypotheka und Verlagerung des Kerns in entgegengesetzter Richtung ausdrückt.

Eine gleichartige Schichtung mit analogen Folgen — wandnahe Lage der Teilungsspindel, inäquale Cytokinese — erfährt der Protoplast von *Eunotia* zu Beginn der Meiose: Hier wird die Kleinzelle zum abortierenden Gameten. Verschiedene Arten verhalten sich nur insofern verschieden, als bei manchen *(Eunotia arcus)* die Kleinzelle einen defekten Chromatophor erhält, während bei anderen *(Eunotia flexuosa)* beide Chromatophoren — ganz wie im Fall der Innenschalenbildung — der vollwertigen Tochterzelle zugeteilt werden (GEITLER 1951 a—c). Bei der Gametenbildung wie bei der Bildung der Innenschalen entscheidet der Unterschied: Epitheka—Hypotheka über das weitere, verschiedene Schicksal der Tochterprotoplasten. Besonders bemerkenswert ist dabei, daß in beiden Fällen der zur *Hypo*theka gehörige Teil des Protoplasten der geförderte, der andere der gehemmte ist. Es besteht also ein für allemal ein in der Organisation des Protoplasten fest verankerter Unterschied an seinen beiden Seiten[1].

Die extrem ablaufende Cytokinese hat die bemerkenswerte Folge, daß im Gegensatz zum Verhalten bei einer vegetativen Teilung nicht 2 Schalen gebildet werden, sondern nur eine einzige Schale entsteht. Nur der vollwertige Protoplast ist fähig, eine Membran auszuscheiden und die Verkieselung durchzuführen. Der andere, vergleichsweise winzig kleine und äußerst plasmaarme Protoplast ist so sehr defekt, daß er keine Schale zu bilden vermag; und dies unbeschadet des Umstands, daß er einen chromosomal vollwertigen Kern mitbekommt. Maßgebend ist also allein das Plasma.

Die Krümmung der einzigen Schale, die entsteht, erscheint mechanisch verständlich aus der Wirkung des höheren Turgordrucks des überlebenden Tochterprotoplasten; durch die Verkieselung wird sie fixiert und bleibt also auch erhalten, nachdem die Kleinzelle abgestorben ist. Jeweils eine einzige Schale entsteht auch bei der Beschalung der Erstlingszellen; hier erfolgt aber überhaupt keine Cytokinese, sondern es läuft nur eine Mitose ab, deren einer wandnaher Tochterkern im ungeteilten Mutterprotoplasten resorbiert wird. Es *kann* in diesem Fall auch nur *eine* Schale entstehen, da nur *eine* Oberfläche vorhanden ist. Im Fall der Innenschalenbildung sind wohl 2 Oberflächen gegeben; der

[1] Welche kausalen Zusammenhänge bestehen könnten, wurde früher eingehend erörtert (GEITLER 1951 a, b). — In gleicher Weise wirksam ist der Unterschied Epitheka—Hypotheka in Verbindung mit einer inäqualen Cytokinese auch bei der Gametenbildung von *Cocconeis*; hier ist aber der Mutterprotoplast an der Seite der Epitheka gefördert (GEITLER 1952).

kleine Protoplast ist aber zu defekt, um eine Schale hervorzubringen; abgesehen vielleicht von Ausnahmen (s. weiter unten).

Daß die Innenschalenbildung eine Zellteilung, wenn auch eine stark modifizierte darstellt, ergibt sich im übrigen aus dem Verhalten der Gürtelbänder: sie rücken wie zu Beginn einer vegetativen Teilung auseinander und es wird wohl auch der unausgewachsene Gürtel der Hypotheka ergänzt (vgl. dazu GEITLER 1951a). Die Zellen mit Innenschalen sind dementsprechend breiter, d.h. besitzen eine längere Pervalvarachse als die ruhenden normalen vegetativen Zellen (Abb. 2a und b). Das Auseinanderrücken der Gürtel geht allerdings nicht so weit wie bei einer vegetativen Teilung; die Pervalvarachse einer Zelle mit Innenschalen und erst recht der eingeschlossenen lebenden Zelle ist daher immer kürzer als die Pervalvarachse eines eben entstandenen normalen Tochterzellpaares. Diese gehemmte Vorbereitung zur Teilung kann aber nicht als *Ursache* der Innenschalenbildung aufgefaßt werden; denn Zellen können sich auch ohne Ergänzung des jüngeren Gürtels teilen und liefern dann wohl 2 ungleich große, aber doch im übrigen normale Tochterzellen (vgl. GEITLER 1951a).

Es ist kaum bezweifelbar, daß auch andere Diatomeen Innenschalen grundsätzlich in der gleichen Weise bilden und daß, allgemein ausgedrückt, die Schalen niemals beliebig und sozusagen spontan entstehen, sondern daß ihre Entstehung auch außerhalb der vegetativen Teilung an Zellteilungsvorgänge gebunden ist. Die Innenschalenbildung erscheint in dieser Hinsicht als gehemmte Zellteilung;[1]; allerdings als eine solche, die in bestimmter Weise sich von sonstigen pathologischen Hemmungen unterscheidet und derart modifiziert ist, daß etwas Lebensfähiges und für den Gesamtformwechsel Brauchbares zustande kommt. Die Innenschalen sind auch morphologisch betrachtet nicht einfach unvollkommen zur Ausbildung gelangte Schalen, sondern in bestimmter Weise umgebaute Schalen, unbeschadet ihrer vereinfachten Zeichnung auf den Schalenflächen, des Fehlens der Raphe und der unvollständigen oder fehlenden Gürtelstücke.

Auch in Fällen *mehrfacher* Bildung von Innenschalen bei anderen Arten wird der beschriebene Mechanismus wirksam sein oder doch zugrunde liegen. Es ist aber möglich, daß bei mehrfachen Innenschalenbildungen noch gewisse Umstände mitspielen können. Abb. 2c zeigt einen der abweichenden Fälle, wie solche einigemale beobachtet wurden. Hier ist eine einzige Mitose abgelaufen, dennoch sind *zwei* Schalen entstanden. Die innen liegende hat fast die normale Ausbildung erreicht,

[1] Schon GRUNOW bezeichnet, allerdings nur nebenbei und vermutungsweise, die Innenschalenbildung als „unvollständige Selbstteilung".

während die außen liegende sehr zart entwickelt ist. Charakteristisch ist der Umstand, daß sich außerhalb der inneren Innenschale deutliche Plasmareste befinden; sonst ist dieser Raum leer. Die Entwicklung konnte in Anbetracht der Seltenheit solcher Fälle nicht verfolgt werden. Doch ist anzunehmen, daß die Sonderung im Protoplasten vor der Mitose nicht so weit wie gewöhnlich geht, daher die inäquale Teilung nicht so extrem abläuft und der Kleinprotoplast genügend Plasma mitbekommt, um den Versuch einer Schalenbildung zu machen. Es entsteht also neben der Schale, die auf die Tätigkeit des vollwertigen Protoplasten zurückgeht, noch die Anlage einer zweiten. Bemerkenswerterweise ist sie nicht spiegelbildlich zu ihrer Schwesterschale orientiert, was durch die von einer normalen Teilung stark abweichende Gesamtkonstellation erklärt werden kann.

Zusammenfassung.

Nicht nur die Bildung der Schalen vegetativer Tochterzellen und die Neubildung der Schalen der Erstlingszellen ist an Zellteilungsvorgänge gebunden, sondern auch bei der Bildung von Innenschalen laufen Mitosen und Cytokinesen ab. Ganz allgemein entstehen also die Schalen der Diatomeen nicht für sich allein und sozusagen spontan, sondern sind grundsätzlich an die — unter Umständen modifizierte oder rudimentäre — Zellteilung gebunden.

Die Bildung der Innenschalen ist mit einer extrem inäqual verlaufenden Cytokinese verknüpft, die bedingt wird durch eine vorangehende Umschichtung und Differenzierung innerhalb des Mutterprotoplasten in pervalvarer Richtung. Sie hat unter anderem die wandnahe Lage der Kernspindel bzw. des einen Spindelpols zur Folge, die ihrerseits in der Telophase zur Entstehung zweier quantitativ und qualitativ sehr verschiedener Tochterprotoplasten führt. Nur der eine, vollwertige Tochterprotoplast ist fähig, eine Schale zu bilden.

Die inäquale Teilung zeigt, abgesehen von der Schalenbildung, grundsätzliche Übereinstimmung mit der differentiellen Teilung, die zu Beginn der Meiose abläuft und einen funktionierenden Gameten und einen Restprotoplasten ergibt.

Wie bei der Gametenbildung zeigt sich auch bei der Bildung von Innenschalen eine gesetzmäßige Differenzierung des Protoplasten in pervalvarer Richtung. Es entscheidet der Unterschied: Epitheka—Hypotheka über den Verlauf der Cytokinese. Dabei ist auch im Fall der Innenschalenbildung — übereinstimmend mit der Gametenbildung — der von der Hypotheka eingeschlossene Teil des Protoplasten der geförderte, der andere der gehemmte.

Literatur.

CHOLNOKY, B. v.: Über mehrfache Schalenbildungen bei *Anomoeoneis sculpta*, Hedwigia (Dresden) **68**, 297 (1928). — GEITLER, L.: Häutung bei einer pennaten Diatomee. Österr. bot. Z. **76**, 98 (1927). — Kopulation und Formwechsel von *Eunotia arcus*. Österr. bot. Z. **98**, 292 (1951a). — Zelldifferenzierung bei der Gametenbildung und Ablauf der Kopulation bei *Eunotia* (Diatomee). Biol. Zbl. **70**, 385 (1951b). — Prägame Plasmadifferenzierung und Kopulation bei *Eunotia flexuosa* (Diatomee). Österr. bot. Z. **98**, 395 (1951c). — Über differentielle Teilung und einen im Zellbau begründeten kopulationsbegrenzenden Faktor bei der Diatomee *Cocconeis*. Z. Naturforsch. **7b**, 411 (1952). — Das Auftreten zweier obligater, metagamer Mitosen ohne Zellteilung während der Bildung der Erstlingsschalen bei den Diatomeen. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 621 (1953). — GRUNOW, A.: Die österreichischen Diatomaceen. I. Verh. zool. bot. Ges. **12**, 315 (1862). — HUSTEDT, F.: Bacillariophyta. In PASCHERS Süßwasserflora, H. 10. Jena 1930a. — Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. In RABENHORSTS Krypt.-Flora, VII. Leipzig 1930b. — PFITZER, E.: Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen. Botanische Abhandlung, herausgeg. von HANSTEIN, Bd. 1. 1871.

Prof. Dr. LOTHAR GEITLER, Botanisches Institut der Universität, Wien III, Rennweg 14.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Praxis der Mikrophotographie

Von **Hans-Henning Heunert**, Hamburg. Mit 109 Abbildungen. VI, 94 Seiten Gr.-8°. 1953. Ganzleinen DM 15.60

Inhaltsverzeichnis: **Grundbegriffe der Optik:** Sphärische Bildfehler. Chromatische Bildfehler. Bildfeldwölbung. Numerische Apertur. Abbildungsmaßstab. Auflösungsvermögen und förderliche Vergrößerung. — **Die mikrophotographische Apparatur:** Grundaufbau des Mikroskops. Die wichtigsten Apparatetypen und ihre Anwendungsmöglichkeiten: Laboratoriums-, Forschungs-, Kameramikroskope. Die mikrophotographischen Kameratypen. Objektive. Okulare. Lichtquellen. Beleuchtungsapparatur (Kondensoren). — **Einstellungsmöglichkeiten am Mikroskop:** Einstellungen im durchfallenden Licht: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast. Einstellungen im auffallenden Licht: Hellfeld (Opakilluminator), Dunkelfeld (Ultropak). Einstellungen im polarisierten Licht. — **Die mikroskopische Aufnahme:** Errechnung der Vergrößerung und einfache Messungen am Mikroskop. Scharfeinstellung. Aufnahmematerial (Negativ): Licht- und Farbempfindlichkeit. Farbfilter. Belichtung. Negativentwicklung. Positiv-Material und Verarbeitung. — **Kleine Ratschläge:** Arbeiten mit Immersionsöl. Reinigung des Mikroskops. Mikro-Aufnahme-Merkbuch. Stufenweise Einstellung. Kühlung des Lichtes. — **Die makrophotographische Aufnahme:** Erweiterung der mikrophotographischen Apparatur für makroskopische Zwecke: Apparate. Objektive. Die Makroaufnahme: Aufnahmen im durchfallenden, im auffallenden Licht.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Ernst Gäumann**, Zürich, und **Otto Renner**, München.

Zuletzt erschien:

Vierzehnter Band: **Bericht über das Jahr 1951**

Mit 75 Abbildungen. IV, 519 Seiten Gr.-8°. 1953. DM 59.60

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Professor Dr. O. Jaag, Zürich. — Submikroskopische Morphologie. Von Professor Dr. A. Frey-Wyssling, Zürich. — **Systemlehre und Pflanzengeographie:** Systematik und Stammesgeschichte der Pilze. Von H. Kern, dipl. Naturwiss., Zürich. — Systematik der Spermatophyta*. Von Professor Dr. K. Suessenguth, München. — Paläobotanik. Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. Ökologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. — Ökologie*. Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge. Von Professor Dr. W. Simonis, Hannover. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. H.-J. Bogen, Marburg/Lahn. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen*. Von Professor Dr. B. Huber, München. — Mineralstoffwechsel*. Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — Stoffwechsel organischer Verbindungen I. (Photosynthese). Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg/Lahn. — Stoffwechsel organischer Verbindungen II. Von Professor Dr. K. Paech, Tübingen. — **Physiologie der Organbildung:** Vererbung. Genetik der Mikroorganismen. Von Professor Dr. H. Marquardt, Freiburg i. Br. — Genetik der Samenpflanzen. Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Riehl. — Cytogenetik. Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. v. Guttenberg, Rostock. — Entwicklungsphysiologie*. Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles (Calif.). — Viren: Bakteriophagen*. Von Dr. W. Weidel, Tübingen. — Sachverzeichnis.

* Der Beitrag folgt in Band XV.

Dreizehnter Band: **Bericht über die Jahre 1949—1950**

Mit 53 Abbildungen. IV, 387 Seiten Gr.-8°. 1951. DM 42.—

Inhaltsübersicht: **Morphologie:** Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle. Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — Morphologie einschließlich Anatomie. Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung. Von Professor Dr. O. Jaag, Zürich. — Sublichtmikroskopische Morphologie*. Von Professor Dr. A. Frey-Wyssling, Zürich. — **Systemlehre und Pflanzengeographie:** Systematik und Stammesgeschichte der Pilze. Von H. Kern, dipl. Naturwiss., Zürich. — Systematik der Spermatophyta. Von Professor Dr. J. Mattfeld†, Berlin-Dahlem. — Paläobotanik*. Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — Systematische und genetische Pflanzengeographie*. Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — Ökologische Pflanzengeographie. Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. — Ökologie. Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **Physiologie des Stoffwechsels:** Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge*. Von Professor Dr. E. Bünning, Tübingen. — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Von Professor Dr. H.-J. Bogen, Marburg/Lahn. — Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Von Professor Dr. B. Huber, München. — Mineralstoffwechsel. Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — Stoffwechsel organischer Verbindungen I. (Photosynthese)*. Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg/Lahn. — Stoffwechsel organischer Verbindungen II. Von Professor Dr. K. Paech, Tübingen. — **Physiologie der Organbildung:** Vererbung. Von Professor Dr. H. Marquardt, Freiburg/Br. — Cytogenetik*. Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — Wachstum und Bewegung. Von Professor Dr. H. v. Guttenberg, Rostock. — Entwicklungsphysiologie*. Von Professor Dr. A. Lang, Pasadena (Calif.). — Viren: Bakteriophagen. Von Dr. W. Weidel, Tübingen. — Sachverzeichnis.

* Der Beitrag folgt im Band XIV.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen zwei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.